

REBIOLEST

REVISTA CIENTÍFICA DE ESTUDIANTES



Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional de Trujillo

Volumen 2 , Número 2

Julio - Diciembre, 2014



Las oportunidades en investigación científica según el PEI de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo

Con la participación de docentes, estudiantes, administrativos, egresados y grupos de interés, el Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas, Dr. Hermes Escalante, dirigió la estructuración del Plan Estratégico Institucional (PEI 2013-2017), considerando que es un imprescindible documento para lograr el aseguramiento de la calidad en la formación profesional. Sometido al Consejo de Facultad primero y luego al Consejo Universitario, el PEI fue aprobado con sendas Resoluciones (040-Fac-CCBB, 0414-2013/UNT).

Al analizar el FODA con relación a los estándares de calidad propuestos por el CONEAU, nos encontramos con que se cuentan con las siguientes **oportunidades** (Ambiente Externo) respecto del factor **investigación científica**: (i) existen recursos con fondos del canon minero para apoyar exclusivamente a la investigación en la Universidad, (ii) existen fondos de CONCYTEC-FIDECOM e internacionales para apoyar las investigaciones, (iii) existen posibilidades para obtener fondos del Estado a través del SNIP para financiar infraestructura y equipamiento para actividades de investigación, (iv) la creación de la Gerencia de Investigación, PS y EU, (v) la creación de la Gerencia de Relaciones Internacionales, (vi) desarrollo en la región del sector agroindustrial, pesquero y minero, (vii) el CONCYTEC y la ANR promueven la indización de las revistas científicas, (viii) el CONCYTEC y la ANR promueven concursos que estimulan las investigaciones, (ix) la Facultad cuenta con convenios para desarrollar investigación, (x) existencia de revistas indizadas a nivel local, regional y nacional, (xi) posibilidad de realizar estudios de Postdoctorado a nivel internacional y (xii) el Estatuto de la UNT contempla el goce del año sabático para investigación.

Luego de un año, se puede afirmar que las oportunidades se están aprovechando, de alguna manera; por ejemplo, en dos convocatorias de concurso de proyectos apoyados con fondos de Canon Minero (2012 y 2013) promovidos por la GICPSEU, cinco de nueve proyectos de la primera convocatoria han sido ganados y están siendo dirigidos por los colegas de la Facultad: Roger Alva Calderón, Andrés Rodríguez Castillo, Zulita Prieto Lara, Luis Pollack Velásquez y Fátima de la Cruz Zavala, y cuatro de 13 de la segunda convocatoria: César Jara Campos, Franklin Vargas Vásquez, Heber Robles Castillo y Eloy López Medina. Asimismo, los colegas Hermes Escalante Añorga y Juan Wilson Krugg lograron que sus proyectos sean apoyados económicamente por CONCYTEC a través de FINCYT y FIDECOM. Al mismo tiempo, nuestra Revista científica REBIOL ha logrado su inscripción internacional (ISSN: 2313-3171 –En Línea-) y estamos tramitando el proceso para inscribir nuestra revista REBIOLEST, como pasos previos a su indización.

Esperamos seguir aprovechando las otras oportunidades que nos permitirá, finalmente tener un estatus de calidad.

El Editor

Foto de la portada: *Charadrius semipalmatus* (Bonaparte, 1825) "Chorlo semipalmado". Familia Charadriidae, Orden Charadriiformes. Su estado de conservación es de **Preocupación Menor (LC)**. Es una especie migrante boreal. Ave limícola, ampliamente distribuida. Foto tomada en el Humedal de Cerro Negro, Puerto Morín, Virú. Foto gentilmente proporcionada por el Dr. Luis Pollack Velásquez.

Editorial

Las oportunidades en investigación científica según el PEI de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo.....2

Contenido/Contents3

Artículos originales/Original papers

- Determinación de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano en Mercados de Trujillo (Perú). **Determination of aflatoxins in cereal products for human consumption in markets from Trujillo (Peru).** Nancy Mejía Acuña, Pedro Alvarado Salinas y Nelly Vásquez Valles (e30).....5
- Adsorción de iones cúprico y plumboso por *Trichoderma viride* FP-UNT 01 a partir de soluciones ideales. **Adsorption of cupric and plumbous ions by *Trichoderma viride* FP-UNT 01 from ideal solutions.** Hany Avila Chuquiruna y Juan Wilson Krugg (e31)12
- Efecto de *Trichoderma viride* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en el crecimiento de *Capsicum Annuum* en condiciones de laboratorio. **Effect of *Trichoderma viride* and *Bradyrhizobium yuanmingense* on growth of *Capsicum annuum* under laboratory conditions.** Rosa Salinas Ventura y Bertha Soriano Bernilla (e32)20
- Efecto del purín de hojas de ortiga, *Urtica dioica*, sobre el crecimiento del rabanito, *Raphanus sativus*, en condiciones de laboratorio. **Effect of nettle, *Urtica dioica*, slurry-leaves on the growth of radish, *Raphanus sativus*, in laboratory conditions.** Leidy Castillo Irigoin y Marlene Rodríguez Espejo (e33)33
- La técnica de ELISA con antígenos del fluido pseudocelómico de *Ascaris suum* en el diagnóstico de la ascariasis pulmonar experimental. **An ELISA test with *Ascaris suum* pseudocelomic fluid antigens for pulmonary experimental ascariasis diagnosis.** Rosa Alva Gálvez, Elin Alvarado Polo, Wilson Casana Mantilla, José Quiroz Amaya, Miguel Ríos Gutiérrez y César A. Jara (e34)43
- Actividad repelente y tiempo de protección experimental del aceite del endospermo de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) en *Aedes aegypti*. **Experimental repellent activity and weather protection of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) endosperm oil in *Aedes aegypti*.** Gisela Otiniano Cerna y Judith Roldán Rodríguez (e35).....48

- Especies vegetales utilizadas por pobladores de Berlín, Bagua Grande (Amazonas, Perú) 2011-2012. **Plant species used by residents of Berlin, Bagua Grande (Amazonas, Peru) 2011-2012.** Malena Grados Vásquez y Freddy Peláez Peláez (e36)61
- Crecimiento de goldish, *Carassius auratus*, y lechuga, *Lactuca sativa*, en sistema acuapónico en condiciones de invernadero. **Growth of Goldfish, *Carassius auratus*, and lettuce, *Lactuca sativa*, in an aquaponic system under greenhouse conditions.** Ana Rodríguez Aguilar y Alina Zafra Trelles (e37).....76
- Guía para los autores.....89



Determinación de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano en Mercados de Trujillo (Perú)

Determination of aflatoxins in cereal products for human consumption in markets from Trujillo (Peru)

Nancy Mejía Acuña¹, Pedro Alvarado Salinas² y Nelly Vásquez Valles²

¹Tesista, Escuela AP de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú.

²Departamento de Microbiología y Parasitología. UNT

RESUMEN

Se determinó la presencia de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano que se expenden en los mercados de la ciudad de Trujillo (Perú), mediante un test de ELISA competitivo con un detector espectrofotométrico a una longitud de onda de 450 nm. Se analizaron 47 muestras elegidas al azar de derivados de cereales correspondientes a harina de maíz, trigo y avena adquiridos en los mercados de la Hermelinda, Central, Zonal Palermo y Unión de la ciudad de Trujillo. Las aflatoxinas fueron extraídas con alcohol metílico. Se determinó la presencia de aflatoxinas sólo en dos muestras de harina de maíz (12.5%), con niveles de 1.0 ug/kg y 1.2 ug/kg (el valor máximo aceptado en la mayoría de países de 20 ppb).

Palabras clave: aflatoxina, maíz, trigo, avena, ELISA

ABSTRACT

Aflatoxins in cereal products for human consumption that are sold in the markets of the city of Trujillo, using a competitive ELISA test with a spectrophotometric detector at a wavelength of 450 nm was determined. 47 samples of corn flour, wheat and oats were tested, from which aflatoxin extracted with methyl alcohol. Samples from three different raw materials (wheat flour, corn and oats) used as food for human consumption that are sold in markets Hermelinda, Central, Zonal and Palermo Union Trujillo was performed. Aflatoxins in only two samples of maize flour (12.5%), with levels of 1.0 ug / kg and 1.2 ug / kg was determined to be the maximum value accepted in most countries of 20 ppb.

Keywords: aflatoxin, corn, wheat, oats, ELISA Test

INTRODUCCIÓN

De las cuatro aflatoxinas principales (B1, B2, G1 y G2), la que se observa habitualmente en mayores concentraciones en alimentos para animales así como en maíz, algodón y maní es la B; ocasionalmente, *A. flavus* y *A. parasiticus* pueden colonizar pequeños granos de cereales como cebada, avena y trigo y, de este modo, producir niveles de aflatoxinas de bajos a moderados^{1,2,4,5,6}.

Las aflatoxinas se han asociado a varias enfermedades como la aflatoxicosis tanto en animales domésticos como en seres humanos y han recibido más atención que cualquier otra micotoxicosis debido a su potente efecto carcinógeno^{6,7,8,9,10,11,12}. Pueden encontrarse como contaminantes naturales en los cereales (esencialmente en el maíz, trigo, arroz y sorgo) y subproductos de cereales, harinas de oleaginosas (algodón, cacahuete, colza, coco, girasol y otros), frutos secos y productos de salchichería, especias, leguminosas, vinos, frutas, leche y derivados^{1,3,8,13,14,15,16,17,18}.

La Food and Agriculture Organisation (FAO) estima que más de un 25% de alimentos en el mundo está contaminado con cierto número de micotoxinas y la presencia de aflatoxinas en los cereales está asociada, tanto a las condiciones de almacenamiento inadecuadas, como a la contaminación del producto en el campo, antes y después de la cosecha^{6,8,19,20,21}.

En la costa peruana es frecuente el uso de cereales en la alimentación: diariamente se utiliza la harina de maíz y de trigo en la preparación de pan y pasteles y la avena en forma directa; por ello, es importante contar con la correspondiente legislación y programas de control de contaminantes naturales de los alimentos como factores de riesgo para enfermedades como el cáncer de hígado. La Unión Europea, por ejemplo, cuenta con dicha legislación (Official Journal of the European Union, 2003) que establece que los niveles máximos admisibles están entre 2 a 8 µg/kg para AFB1 y de 4 a 15 µg/kg para la sumatoria de las cuatro aflatoxinas (AFB1+AFB2+AFG1+AFG2), dependiendo de los diferentes alimentos (maní, frutos de cáscara, frutos secos y productos derivados de su transformación, cereales y productos derivados de su transformación) y en el caso de alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes, la concentración máxima permitida de AFB1 es de 0,10 µg/kg^{22,23,24,25}.

Conocidas desde 1960, las aflatoxinas han sido detectadas en varios países con porcentajes variables^{9,22}. En el Perú, se determinó la presencia de aflatoxinas en el 32% de varias especies de cereales¹⁶ siendo éste uno de los pocos antecedentes sobre el particular. Ello condujo a la ejecución de la presente investigación dirigida a determinar la presencia de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano que se expenden en los mercados de la ciudad de Trujillo (Perú) y considerando que las aflatoxinas han sido reportadas como los contaminantes naturales de alimentos más peligrosos para la salud humana y están clasificadas como cancerígenos Clase 1 por la Agencia Internacional de Investigaciones sobre Cáncer (IARC).

MATERIAL Y MÉTODOS

Material de Estudio

Se obtuvo, al azar, 47 muestras de 250 g cada una, de avena, harina de maíz y trigo que se expenden los mercados de la Hermelinda, Unión, Central y Zonal Palermo de la ciudad de Trujillo (Perú), en los que no se observaron alteración aparente (Tabla 1).

Recolección y procesamiento

Las muestras fueron recogidas y procesadas de acuerdo a las técnicas sugeridas en el método RIDASCREEN®FAST Aflatoxin Total que es un inmunoensayo enzimático competitivo para el análisis cuantitativo de aflatoxina en cereales y alimentos para animales (raciones balanceadas). Las muestras se colocaron en bolsas plásticas transparentes de primer uso debidamente rotuladas y posteriormente se llevaron al Laboratorio de Microbiología y Tecnología de alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad nacional de Trujillo, para ser analizadas.

Detección de aflatoxinas

Método inmunoenzimático RIDASCREEN®FAST Aflatoxin Total

Extracción^{27, 28}

Se pesaron 5 g de la muestra y se mezcló con 25 ml de metanol al 70%, agitándose por 3 minutos. Luego, el extracto fue filtrado a través de un papel Whatman N°1. Luego se diluyó 1ml del filtrado con 1ml de agua destilada. Se utilizó 50 ul del filtrado diluido por micropozo en el test.

Proceso^{29, 30}

- Se llevaron todos los reactivos a temperatura ambiente (20-25° C) por 30 minutos antes de ser utilizados.
- Se colocaron suficientes micropozos en el marco portamicropozos para el estándar y para las muestras analizar.
- Se agregó 50 µl del estándar y de las muestras a analizar a los micropozos correspondientes.
- Se utilizó una punta de micropipeta nueva para el estándar y para cada muestra.
- Se agregó 50 ul del conjugado aflatoxina-enzima a los micropozos correspondientes.
- Luego se agregó 50 ul del anticuerpo anti-aflatoxina a cada micropozo.
- Se mezcló el contenido de la microplaca suavemente y se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente.
- Después se vació los micropozos y luego se golpeó enérgicamente (tres veces consecutivas) el marco portamicropozos sobre un papel absorbente limpio y asegurarnos la eliminación de restos líquidos.
- Los micropozos fueron lavados con agua destilada utilizando una botella de lavado, nuevamente se vació los micropozos de la forma ya indicada.
- Se repitió este paso dos veces más.
- Posteriormente se agregó 100 ul del substrato/ cromógeno a cada micropozo.
- Luego se mezcló el contenido suavemente y se incubó 5 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente (20-25° C).
- Después se agregó 100 ul de reactivo de parada a cada micropozo.
- Se mezcló suavemente y se midió la absorción a 450 nm en el transcurso de los siguientes minutos

Tabla 1. Número de muestras y pesos de avena, harinas de maíz y trigo obtenidas de los mercados de la Hermelinda, Unión, Mayorista y Central de la ciudad de Trujillo (Perú).

Mercado	Muestra	Peso	Cantidad	Total
Hermelinda	Avena	250 kg	2	8
	Harina de trigo	250 kg	1	
	Harina de maíz	250 kg	5	
Unión	Avena	250 kg	6	16
	Harina de trigo	250 kg	6	
	Harina de maíz	250 kg	4	
Mayorista	Avena	250 kg	3	8
	Harina de trigo	250 kg	3	
	Harina de maíz	250 kg	2	
Central	Avena	250 kg	5	15
	Harina de trigo	250 kg	5	
	Harina de maíz	250 kg	5	
Total				47

Los valores de absorción que se obtuvieron del estándar y de las muestras se dividieron por el valor de absorción del estándar (estándar cero) y se multiplicaron por 100. De esta forma el estándar cero que es igual a 100 % y los demás valores de absorción se indicaron en porcentaje.

RESULTADOS

De un total de 47 muestras de avena, harina de trigo y maíz que fueron analizadas mediante la prueba de Elisa, dos muestras de harina de maíz resultaron positivas a la presencia de aflatoxinas. Los valores obtenidos fueron de 1,0 y 1,2 µg/kg (Tabla 2). En la misma Tabla 2 se observa que el número de muestras analizadas para cada materia prima fue de 16 muestras de harina de maíz, 15 de harina de trigo y 16 de avena, así también la cantidad de muestras positivas que en este caso fueron 2 para harina de maíz la cual tiene una ocurrencia de 12.5 % y su lectura de absorbancia tiene un rango de 0.935 – 0.942 y la cantidad de aflatoxinas tiene un rango de 1.0 – 1.2 ug/Kg. El resto de muestras de avena y harina de trigo fueron negativas a la presencia de aflatoxinas.

Tabla 2. Número de muestras analizadas, muestras positivas y niveles de Aflatoxina presentes en harina de maíz, trigo y avena para Consumo Humano que se Expenden en los Mercados de Trujillo (Perú).

Materia prima	Nº de Muestras analizadas	Nº de Muestras positivas a la presencia de aflatoxinas	Frecuencia relativa	Lectura de absorbancia		ppb (ug/kg)*
				Media	Rango	Rango
Harina de maíz	16	2	12.5 %	0.938	0.935 - 0.942	1.0 - 1.2
Harina de trigo	15	0	0	1.128	1.153 - 1.291	0
Avena	16	0	0	1.128	1.153 - 1.291	0
Total	47					

*FAO/OMS³¹: 20 ug/kg nivel máx.

DISCUSIÓN

Los resultados de la tabla 1 muestran que de 47 muestras de avena, harina de maíz y trigo dos de ellas resultaron positivas a la presencia de aflatoxinas, en la tabla 2 se observa que las muestras positivas fueron encontradas en harina de maíz con una ocurrencia de 12.5% y una concentración de aflatoxinas de 1.0 y 1.2 µg/kg, estos valores encontrados no superan los niveles superiores a los parámetros europeos de 20 ug/kg^{1,31}.

Los valores de aflatoxina encontrados corresponden a lo señalado por varios autores que citan al maíz como la materia prima para alimento, más susceptible de contaminación por aflatoxinas^{24,25,26,27,28}. La contaminación por aflatoxinas en maíz es un problema de importancia internacional, sobre todo en aquellos países con clima tropical y subtropical donde el desarrollo por *Aspergillus* se ve favorecido; entre otros factores, se ha reportado que la sequía, como condición del medio ambiente y la fertilización nitrogenada empleada en la práctica agronómica son favorables para la síntesis de aflatoxinas en el campo^{9,23,25,26}.

La ocurrencia de un 12.5% en muestras positivas en harina de maíz es muy similar a lo encontrado en un trabajo anterior, donde se obtuvieron resultados de ocurrencia cercana al 12.8% en maíz¹⁷; comparando los resultados, se refleja que aun en diferentes regiones, en diferentes épocas y años, se encuentran porcentajes de ocurrencia similares, dejando ver que el manejo del grano continúa con deficiencias en sus condiciones, especialmente en el almacenamiento, donde habitualmente se produce la contaminación con

aflatoxina B₁(AFB₁). Esta característica resalta la necesidad de contar con políticas de inocuidad más efectivas para este tipo de productos y contaminantes^{1,9}.

La presencia de aflatoxinas en dos muestras de maíz, ponen de manifiesto que existen algunas deficiencias en el manejo post-cosecha de granos especialmente durante el almacenamiento. Los resultados obtenidos, aunque son puntuales, dejan ver que se hace necesario implementar estrategias para la vigilancia, el seguimiento y control de este tipo de contaminantes de ocurrencia natural los cuales tienen implicaciones directas sobre la salud humana. Los resultados pueden ser variables en otras regiones, épocas del año y en circunstancias particulares. Se requiere continuar este tipo de muestreo con el fin de obtener mayor cantidad de datos que permitan analizar el comportamiento de los niveles de aflatoxinas en alimentos de consumo humano¹.

En un estudio realizado en 'El Bajío', México, para investigar si la contaminación del maíz almacenado de esa región está relacionada con la infección por *Aspergillus* desde el campo, Bucio-Villalobos 2001 encontraron que esta contaminación por aflatoxinas en maíz se debía a las deficientes condiciones de almacenaje luego de cosechado⁴³. El manejo inadecuado del grano durante la cosecha, transporte y almacenaje generalmente ocasiona el incremento de grano enmohecido. Una cosecha inoportuna y el uso de cosechadoras mal calibrados que generan daño mecánico al grano, así como una deficiente desecación del mismo antes del almacenamiento promueven el crecimiento de *Aspergillus* en el grano de maíz, en donde las especies productoras de aflatoxinas pueden estar presentes³⁰. Así el manejo inadecuado de las temperaturas en el almacén es un factor que promueve el desarrollo de hongos potencialmente toxigénicos, así mismo, la producción de aflatoxinas. Munkvold (2003) encontró que las temperaturas óptimas para almacenar granos no deben exceder preferentemente los 20° C³⁰.

Las interacciones con insectos (vectores) que producen un daño físico al maíz como la presencia de otros microorganismos, afectan la producción de aflatoxinas, así, *Brevibacterium linens* y *Streptococcus lactis*, inhiben su síntesis mientras que *Lactobacillus plantarum* y *Acetobacter aceti* la estimulan; así también cuando los hongos *Aspergillus* crecen en cultivo mixto con *Penicillium oxalicum* u otros hongos, se reduce la producción de aflatoxinas. Esta interacción con otros microorganismos afirma que la diversidad en los niveles de aflatoxinas se debe a las múltiples interacciones entre el género *Aspergillus* y su entorno biótico y abiótico. Según carrillo 2010, esto se debe a que en campo en almacenamiento, los factores ambientales no son constantes, por lo que puede ocurrir un crecimiento fúngico significativo sin encontrarse la cantidad de aflatoxinas esperadas¹⁶.

Una gran variabilidad en la incidencia de aflatoxinas, está influenciada por factores climáticos como: temperatura, acidez, humedad, presencia de microflora competidora, actividad de agua, concentraciones de CO₂, pH; dejando ver que el manejo del grano continúa con deficiencias en sus condiciones²⁹. El hecho de que haya una alta incidencia de hongos toxigénicos no necesariamente está relacionada con una alta producción de micotoxinas, es notable el hecho de que el efecto potencial de éstas últimas es acumulativo es los sistemas bilógicos expuestos o consumidores del grano contaminado. Por ello, las instituciones involucradas en la sanidad de los alimentos deben implementar las medidas necesarias para promover la inocuidad de los granos de maíz¹⁸.

En los resultados de la Tabla 2 también se observa que en las muestras de avena y harina de trigo se detectó la presencia de aflatoxinas, estos resultados son satisfactorios para la población trujillana, lo que indican que el nivel de riesgo es bajo y no representan un peligro significativo en relación a las muestras analizadas. No obstante debe considerarse que las muestras analizadas no corresponden a un muestreo sistemático, ni a un monitoreo permanente de la calidad e inocuidad de los productos, sino que por el contrario corresponden a un muestreo puntual tomado en una sola oportunidad a lo largo del estudio.

Es posible que estos resultados tengan variaciones respecto a la época del año, las condiciones climáticas y ambientales de cada periodo y cada subregión, por lo tanto no se deben generalizar. Es posible que la ocurrencia de aflatoxinas no sea detectable, sin embargo el número de muestras también puede haber sido muy bajo para afirmar que no se presentan aflatoxinas en harina de trigo y avena, en términos generales. En este sentido se hace necesario continuar monitorizando en diferentes puntos de comercialización y en mayores períodos de tiempo¹.

En el Perú el límite máximo tolerable para los alimentos de consumo humano es de 10 ppb según el codex alimentarius pues, no hay normas alimentarias en nuestro país. La administración de alimentos y

drogas (FDA) establece que el límite máximo permitido en los alimentos y productos de consumo humano es de 20 ppb²¹. La FAO/OMS señala que la reglamentación Venezolana, para micotoxinas en maíz y sus derivados, admite concentraciones de aflatoxinas B1, B2, G de hasta 20 ppb; no obstante, siendo estos valores permitidos similares a los aceptados en otras regiones, como E.E.U.U. y otros países latinoamericanos y europeos, en donde indican permitir valores desde 1 hasta 20 ppb para alimento destinado a personas y rangos desde 20 a 300 ppb para animales, la falta de rigurosidad en el control de calidad de este grano empleado para la producción de alimento ha generado problemas de salud, principalmente en animales domésticos^{23,24,25}.

En la actualidad, en la ciudad de Trujillo no se ha reportado estudios sobre la contaminación por *Aspergillus* y sus metabolitos en harina de maíz, trigo y avena. Un estudio realizado por Cruzalegui en 1985 en nuestra ciudad ha demostrado una contaminación con aflatoxina en un 40% de muestras de avena molida⁴¹, después Valencia en 1992 demostró la acción toxigénica de *A. flavus* aislado de muestras de arroz que se consume en la ciudad de Trujillo³¹.

CONCLUSIONES

- Considerando las condiciones en las que se ha trabajado se concluye que se detectó la presencia de aflatoxinas en un 12.5% en las muestras de harina de maíz de los mercados la Unión y Central de la ciudad de Trujillo; las muestras de avena y harina de trigo fueron negativas a la presencia de aflatoxinas.
- La presencia de aflatoxinas encontradas están por debajo de los niveles superiores que son de 20 ug/kg, según la normativa de la FAO/OMS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Morris NL. Determinación de aflatoxinas en muestras de maíz (*Zea mays*) y arroz (*Oryza sativa*) para consumo humano en cinco departamentos de la Costa Caribe Colombiana mediante cromatografía de alta eficiencia. (tesis Magisterial). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. 2011.
2. Rojas O, Wilches A. Determinación de aflatoxinas en alimentos de mayor consumo infantil comercializados en la ciudad de Pamplona, Norte de Santander. *Bistua* 2009; 7: 1-11.
3. Vallejo LM. Determinación de aflatoxinas B1, B2, G1, G2, presentes en harina de maíz del sector de Tumbaco mediante el uso de columnas de inmunoafinidad (IAC) y cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). (tesis Magisterial). Ecuador: Departamento en Ciencias de la Vida, Ingeniería en Biotecnología.; 2012.
4. Gonzalo J, Díaz G. Micotoxinas Presentes en la Soya y sus Subproductos. Cali: Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional de Colombia. 1995.
5. Fernández SG, Negrón GG, Isea FG, Sánchez CE. Reporte de Análisis Cuantitativo por el Método Elisa en muestras de materias primas de alimentos balanceados para aves provenientes de una planta ubicada en el municipio Mara en el estado de Zulia, Venezuela 2000. *Rev. Científica, FCV-LUZ*; 10(1): 63-68.
6. Izquierdo C, Rojas E, Rangel L, Márquez S. Presencia de aflatoxinas en algunos alimentos 2009. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 13:485-492.
7. Pozas SR, Abad AJ. Adsorción de Micotoxinas presentes en los Alimentos Mediante Biopolímeros. España: Universidad Politécnica De Cataluña. 2010.
8. Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. Efectos Tóxicos de las Micotoxinas en el ser Humano. *Bull WHO* 1999; 77 (9): 754-766.
9. Díaz GJ, Perilla NS, Rojas Y. Occurrence Of Aflatoxins In Selected Colombian Foods. *Mycotox. Res.* 2001; 17: 15-20.
10. Duarte VS, Villamil JL. Micotoxinas en la Salud Pública. *Rev. Salud Pública* 2006; 8: 129-135.
11. Soldevilla C., Vázquez C., Patiño B., Jurado M., González JM. Hongos toxicogénicos asociados a trigos y cebadas de Castilla y León. *Rev Bol SanVeg Plagas* 2005; 31: 519-529.
12. Qureshi M, Brake P, Hamilton W, Hagler JR, Nesheim S. Dietary Exposure of Broiler Breeders to Aflatoxin Results in immune Dysfunction in Progeny Chicks. *Poultry Sci.* 1998; 77: 812-819.
13. Cabrerizo IC. El maíz en la alimentación humana: Nutrición y dietética, Universidad Complutense de Madrid. 2004.

14. Caballero MJ, Arbaiza FT. y Lucas AO. Niveles Críticos de Aflatoxina en Muestras de Maíz para Consumo Animal en Lima Metropolitana. Rev Inv Vet Perú 2001 12(1): 35-40.
15. Bermúdez AM; Espinosa PA; Valenzuela QA y Vázquez ML. Extracción y Determinación de Aflatoxinas en Muestras de Hígado y Músculo de Cerdos 2002. FCV-LUZ 12(1): 53-59.
16. Medina MF, Irey J, Roque M. Determinación de aflatoxinas en algunos productos naturales utilizando el medio Agar coco y ELISA LIGADA. Rev. Ciencia e Investigación 2002; 5(2): 46-54
17. Acuña C.A, Díaz, G.J. y Espitia M.E. Aflatoxinas en maíz: reporte de un caso en la Costa Atlántica colombiana. Rev Med Vet Zoot 2005; 52: 156-162.
18. Lemus ED, Maniscalchi BM, Vera R, De Freitas J, Sangermano A. Presencia de Aflatoxinas y Hongos Aflatoxigénicos en Maíz Amarillo Tipo Duro Clase I de La Zona Nororiental de Venezuela. Rev. Saber, Universidad de Oriente, Venezuela 2007; 19(1): 43-49.
19. Medina GM, Irey NJ, Roque AM. Determinación de aflatoxinas en algunos productos naturales utilizando el medio Agar coco y ELISA Ligada. Rev Ciencia e Investigación 2002; 5(2):46-54.
20. Munkvold GP. Cultural and genetic approaches to managing micotoxins in corn. Annual Review of Phytopathology 2003; 41: 99-116.
21. FAO/OMS. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en alimentos y en las raciones en el año 2003. Estudio FAO: Alimentación y Nutrición 81. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Italia. 2004.
22. Ali N, Yamashita A, Yoshizawa T. Natural co-occurrence of aflatoxins and *Fusarium* mycotoxins (fumonisins, deoxynivalenol, nivalenol, zearalenone) in corn from Indonesia. Food Addit Contam. 1998; 15(4): 377-384.
23. Nepote M, Piontelli E, Saubois A. Occurrence of *Aspergillus flavus* strains and aflatoxins in corn from Santa Fe, Argentina. Arch Latinoam Nut 1997; 47(3): 262-264.
24. Qureshi M, Brake P, Hamilton W, Hagler JR, Nesheim S. Dietary Exposure of Broiler Breeders to Aflatoxin Results in immune Dysfunction in Progeny Chicks. Poultry Sci. 1998; 77: 812-819.
25. Sabino M, Prado G, Ikejire I, De Olivera M, Baleiro R. Natural occurrence of aflatoxins and zearalenone in maize in Brazil. Part II. Food Addit. Contam 1998; 6 (3): 327-331.
26. Silvotti L, Petterino C, Cabassi E. Immunotoxicological effects on piglets of feeding sow diets containing aflatoxins. Vet. Rec. 1997; 141:462-472.
27. Torres E, Askar K, Torres L, Olivera R, Castellon J. Quantification of aflatoxins in corn distributed in the city of Monterrey. Mexico. Food Addit Contam. 1995; 12(3): 387-393.
28. Martínez F. y García A. Inspección de aflatoxinas en maíz cultivado, almacenado, transportado en el estado de Tamaulipas, México, en 1998. An Inst Biol, Serie Botánica 2003; 74: 13-321.
29. Medina GM, Irey NJ, Roque AM. Determinación de aflatoxinas en algunos productos naturales utilizando el medio Agar coco y ELISA Ligada. Rev. Ciencia e Investigación 2002; 5(2):46-54.
30. Reyes E. Determinación de aflatoxinas M, en productos alimenticios de origen animal en Guatemala. En: XI Cong Panamer Farm y Bioq, Lima-Perú, 1982.pp.326-332.
31. Valencia SA. Detección de *Aspergillus flavus* en *Oryza sativa* que se consume en la ciudad de Trujillo y demostración de su acción toxigénica en *Anser anser*. Tesis Br en Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú, 1992.
32. Bucio-Villalobos CM, Guzmán de Peñas D, Peña-Cabriales JJ. Aflatoxin synthesis in corn fields in Guanajuato, México. Rev Iberoam Micol. 2001; 18: 83-7.



Adsorción de iones cúprico y plumboso por *Trichoderma viride* FP-UNT 01 a partir de soluciones ideales

Adsorption of cupric and plumbous ions by *Trichoderma viride* FP-UNT 01 from ideal solutions

Hany Avila Chuquiruna¹ y Juan Wilson Krugg²

¹Tesista, Escuela AP de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo, Perú.

²Departamento de Microbiología y Parasitología UNT.

RESUMEN

Se determinó la capacidad de adsorción de los iones cúprico plumboso por *Trichoderma viride* FP-UNT-01 a partir de soluciones ideales de sulfato de cobre y plomo (II), respectivamente. La biomasa fúngica se obtuvo por cultivo en suero de papa sacarosa sometida a un lavado con ácido nítrico (HNO₃) al 0.1N en biorreactores aireados; los pellets formados se secaron en estufa a 60°C durante 24 horas. Se colocó 8g de pellets en un sistema de cuatro columnas a través de las cuales se hizo pasar una solución de ión cúprico a 19 ppm y de ión plumboso a 40 ppm de concentración para ser recirculadas durante seis horas. Cada tres horas se tomó una muestra de 250mL para ser analizadas por espectrometría de masas. Se realizó tres repeticiones para cada tratamiento y los resultados se sometieron a la prueba T de Student para muestras emparejadas. Se encontró que *T. viride* FP-UNT-01 presenta mayor capacidad de adsorber ión plumboso que de ión cúprico con un 15.2% de diferencia.

Palabras clave: Ion cúprico, ion plumboso, biorreactor aeriado, *Trichoderma viride*

ABSTRACT

The adsorptive capacity of the cupric and plumbous ions by *Trichoderma viride*-01 FP-UNT from ideal solutions of lead and copper sulfate (II), respectively, were determined. The fungal biomass was obtained by cultivation on potato sucrose serum subjected to washing with nitric acid (HNO₃) at 0.1N in aerated bioreactor; The formed pellets were dried in an oven at 60 ° C for 24 hours. 8g was placed pellets in a four column through which was passed a solution of cupric ion at 19 ppm and 40 ppm plumbous ion concentration to be recirculated for six hours. Every three hours, a 250 mL sample for analysis by mass spectrometry was taken. Three replicates for each treatment was performed and the results were subjected to Student's t test for paired samples. It was found that *T. viride* FP-UNT-01 has greater ability to adsorb plumbous ion to cupric ion with 15.2% difference.

Keywords: Ion cúprico, ion plumboso, bioreactor aired, *Trichoderma viride*

INTRODUCCIÓN

El contenido metálico en los residuos mineros se encuentra usualmente en concentraciones bajas, de modo que cuando superan determinados límites pueden llegar a ser tóxicos y contaminantes debido a su gran persistencia (a diferencia de la mayoría de compuestos orgánicos) y a la tendencia a acumularse en los sistemas biológicos, siendo de gran peligro para el ambiente en general³. Al respecto, el decreto supremo N° 0102010 establece que los límites máximos permisibles para las concentraciones de cobre (Cu) y plomo (Pb) no deben ser superiores a 0.4 mg/l y 0.16 mg/l, respectivamente^{1,2}. El aumento de éstos ocasiona graves alteraciones en el metabolismo, crecimiento y desarrollo de los seres vivos en los diferentes ecosistemas^{3,4,5,6}.

Se ha descrito que la concentración elevada de Cu y Pb afecta el crecimiento de los vegetales, no por una disminución significativa del potencial osmótico del sustrato sino por su propia toxicidad, así como de los animales porque afecta a las enzimas que catalizan las reacciones de la biosíntesis de la hemoglobina produciendo anemia y daño cerebral^{2,3,5,6,7}.

En el Perú, país minero, existe una contaminación permanente del ambiente hídrico: La Oroya sufre de contaminación con plomo, cadmio y otros metales, la ciudad Ilo por la lluvia ácida, Cerro de Pasco, Madre de Dios, La libertad, Lima y Cajamarca con la presencia de plomo, cadmio y otros metales en sus ríos²¹. La misma situación se ha observado en otros ríos^{8,9,10,11,12,13}. En el Departamento de la Libertad, se ha determinado el impacto negativo de los relaves mineros sobre las aguas, suelos y cultivos en la Cuenca del río Moche¹⁴.

Recientemente, se ha establecido el potencial de adaptación de algunos microorganismos a ambientes extremos, estos microorganismos suelen poseer mecanismos de resistencia a los iones metálicos, lo cual representa un fenómeno de gran interés en la perspectiva de su posible aplicación y el uso de su biomasa para tratar de eliminar metales pesados de los diferentes nichos acuáticos contaminados: bacterias, hongos, levaduras y algas pueden eliminar los metales pesados y radionúclidos de las soluciones acuosas en cantidades sustanciales^{15,16,17,18,19,20}.

Los mohos y las levaduras acumulan micronutrientes tales como Cu, Zn, Mn y no-metales; nutrientes como U, Ni, Cd, Sn y Hg en cantidades más altas que sus necesidades nutricionales^{25,26,27,28,29}. El potencial de la biomasa fúngica como biosorbente ha sido reconocido por la eliminación de los metales pesados procedentes de aguas contaminadas^{28,29,30,31,32,33}. El micelio de los hongos tiene la capacidad de secuestrar metales pesados bioasimilables y prevenir la translocación a los vegetales, disminuyendo la disponibilidad del mismo en el suelo^{30,32,33,34,35}. Si bien el mecanismo por el cual algunos metales pesados se acumulan en las setas es algo incierto, parece estar asociada con una reacción de quelación con grupos tio (-SH) de proteínas, especialmente, con la metionina^{35,36}. Las setas se pueden utilizar para evaluar el nivel de contaminación ambiental, realizándose estudios para evaluar el posible peligro para la salud humana por la ingestión de hongos que contienen metales pesados^{37,38,39}.

Aspergillus niger MTCC 2594 fue capaz de acumular y adsorber Cr de líquidos contaminados después del curtido de cueros y pieles y eliminar eficazmente los iones de U, Pb, Cd y Cu; *A. oryzae* eliminó los iones de Cd y Cu de una solución acuosa; *A. terreus* Cr, Ni y Fe de efluentes metalúrgicos; *A. niger* y *Mucor rouxii* metales pesados de soluciones acuosas, y, comparativamente, *Rhizopus* sp. puede bioadsorber mayor concentración de metales pesados que *Aspergillus* sp^{23,24}. Se ha evaluado, asimismo, la capacidad de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* para adsorber Cd⁺² y Pb⁺² encontrándose que *B. bassiana* mostró una mayor capacidad de adsorción en comparación con *M. anisopliae*, lo que podría ser debido a la diferencia en la estructura de la pared celular^{26,27,39,40}.

Se ha determinado, al mismo tiempo, que *T. viride* es un biosorbente eficaz para la eliminación de Cr (VI) de las soluciones acuosas de alginatos libres de células²¹, al igual que *T. asperellum* que es capaz de adsorber Cu (II) con más de 90% de eficacia⁴⁸. *T. harzianum*, por su lado, puede extraer y recuperar U a partir de soluciones acuosas de Ca-alginato inmovilizados³⁹.

El Perú en los últimos años ha enfrentado el incremento de su industria minera, trayendo como consecuencia el aumento de las técnicas para la extracción de metales y por lo tanto el aumento de los

desechos que éstas ocasionan y considerando el papel relevante de los microorganismos en la adsorción de metales pesados, así como el desarrollo de nuevas alternativas a los métodos tradicionales para el tratamiento de aguas y suelos contaminados, el presente trabajo busca determinar la capacidad de adsorción de *Trichoderma viride* para ión cúprico y plumboso a partir de soluciones ideales. Presentando de esta manera una nueva alternativa de biorremediación de los efluentes minero-industriales libre de contaminación ambiental y daños para la salud pública.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivos:

Cultivo puro de *Trichoderma viride* FP-UNT 01, proporcionados por la cátedra de Fitopatología de la Facultad del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.

Resiembra para obtener cultivo joven de *Trichoderma viride* FP-UNT-01

Del cepario de la cátedra de Fitopatología se tomó un cultivo de *T. viride* FP-UNT-01, el cual fue resembrado en tubos con Agar Papa Sacarosa más Doxiciclina (APSD). Se incubó a 25°C por 10 días. Los cultivos resembrados fueron identificados en base a sus características macroscópicas y microscópicas⁵².

Producción de Biomasa de *T. viride* FP-UNT 01^{30,40}

A partir de cultivos puros de *T. viride* FP-UNT 01 se realizó una siembra en frascos planos conteniendo APSD. Se incubó a 25°C durante 15 días. Al cultivo en frasco plano se agregó 30 mL Agua Destilada Estéril (ADE) y se realizó una suspensión de esporas que fueron utilizadas en la producción de biomasa. El equipo para producción de biomasa consistió en un sistema de aireación para quince biorreactores, los cuales eran recipientes cilíndricos de vidrio de 500 mL de capacidad cada uno, conteniendo 300mL de caldo papa suplementado con sacarosa (12g de azúcar) y antibiótico (Doxiciclina), a los cuales se agregó 5 ml de suspensión de esporas. Estos sistemas fueron controlados a una temperatura de 25°C y aireación constante durante 15 días. El aire fue suministrado por una bomba de aire, el cual paso primero por un proceso de esterilización con sulfato de cobre al 5% y NaCl al 23% para que luego se distribuya a los biorreactores. La cantidad de aire fue controlada mediante reguladores para evitar romper el micelio del hongo en su crecimiento.

Obtención de pellets de *T. viride* FP-UNT 01^{30,40}

Luego del periodo de incubación, se filtró el contenido de los 15 recipientes separando la biomasa fúngica producida mediante una malla, la que se colocó en placas de vidrio y se trató con HNO₃ 0.1N por una hora. Posteriormente con ayuda de un lienzo se tamizó la biomasa en esferas o “pellets” de 5 mm de diámetro aproximadamente, los que fueron secados a 60°C por 24 horas, con la finalidad de obtener pellets compactos y porosos⁵³.

Equipo Experimental para adsorción de Cu²⁺ y Pb²⁺

Se construyó un sistema de cuatro columnas de 25cm de alto y 2,5 de diámetro cada una, empacadas y conectadas en serie con efluente descendente. Las columnas fueron mantenidas herméticamente cerradas por ambos lados con tapones de jebe. En el interior de cada columna, a aproximadamente 2cm de la base, se colocó una malla. Dentro de las columnas se colocaron los “pellets” de *T. viride* FP-UNT 01 suspendidas en dicha malla⁵⁴.

Preparación de Soluciones ideales de Sulfato de Cobre y Sulfato de Plomo.

Se tomó 0,12g de CuSO₄.5H₂O y se agregó dos litros de Agua Ultra Pura Estéril⁵⁵ para obtener una concentración final de 19 ppm de ión cúprico. Con respecto al ión plumboso se tomó 0,2g de Sulfato de Plomo (II) a la que también se agregó dos litros de agua ultra pura estéril⁵⁶, para obtener una concentración final de 40ppm de éste ión; se agregó HCl 0.1N para obtener un pH de 4 para ambas soluciones. Estas soluciones ideales serán percoladas hacia la parte baja de la columna a través de mangueras de plástico.

Evaluación de la capacidad adsorbente de *T. viride* FP-UNT 01^{30,40}

Una vez culminada la fase de pelletización se agregó 2g de pellets a cada columna y se hizo recircular 2000 ml de las soluciones ideales. Se realizaron tres repeticiones. La capacidad de adsorción de ion cúprico y plumboso fue evaluada determinando la concentración de los mismos iones en partes por millón (ppm), para lo cual se extrajo 250mL de solución cada 3 hora, hasta las 6 horas posteriores de iniciadas las pruebas. Las muestras colectadas se analizaron por espectrometría de masas.

Las muestras para evaluar la capacidad adsorbente fueron recolectadas cada tres horas desde la hora cero hasta las 6 horas de tratamiento. Se colectó 250ml de solución de Sulfato de Cobre en frascos estériles, conservándose la muestra con ácido nítrico a un pH < 2. De la misma manera se procedió a la recolección de las muestras de la solución de Sulfato de Plomo. Posteriormente, las muestras fueron trasladadas al Laboratorio para su análisis.

Análisis de Resultados

Los resultados obtenidos en cada ensayo fueron tratados estadísticamente mediante la prueba T de Student para evaluar la significancia de las diferencias observadas entre las medias del factor de evaluación.

RESULTADOS

El porcentaje promedio de adsorción de ion cúprico por pellets de *T. viride* FP-UNT 01 a las tres horas fue de 6,9%, mientras que a las seis horas fue de 9.1% (Fig. 1).

Se observa que el promedio porcentual de adsorción de ion plumboso por pellets de *T. viride* FP-UNT 01, según la Fig. 2 fue de 7.327 ppm equivalente al 19,4% y 9.341 ppm equivalente al 24,3% a las tres y seis horas, respectivamente.

En relación a la comparación porcentual promedio entre la adsorción de ion cúprico y plumboso por *T. viride* FP-UNT 01, a las seis horas del ensayo se observa que *Trichoderma* adsorbió 9.1% de ion cúprico y 24.3% de ion plumboso (Fig. 3).

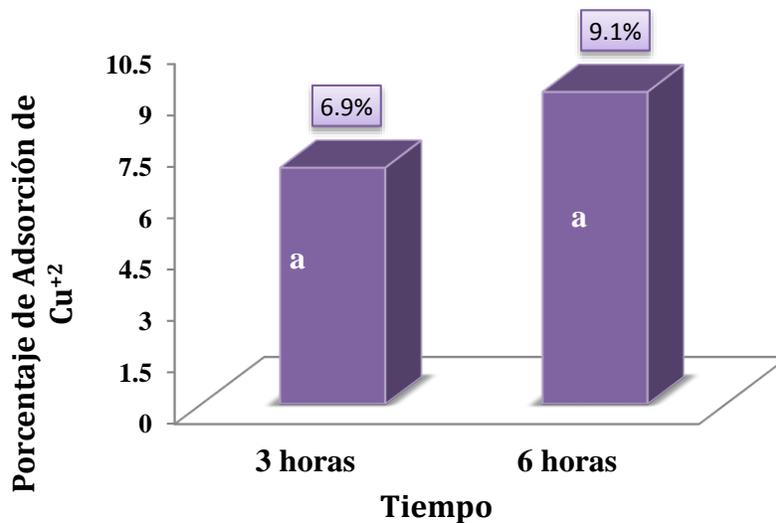


Fig. 1. Porcentaje promedio de adsorción de ion cúprico (Cu²⁺) por pellets de *Trichoderma viride* FP-UNT 01 a partir de una solución ideal de sulfato de cobre a las tres y seis horas de tratamiento. a = p > 0.05, no existe diferencia significativa. a: adsorción de Cu²⁺

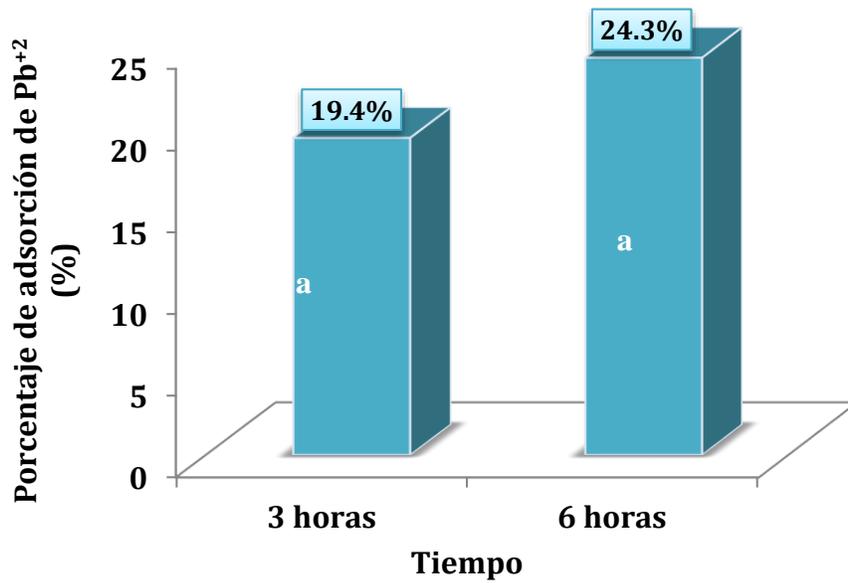


Fig. 2. Porcentaje promedio de adsorción de ión plumboso (Pb²⁺) por pellets de *Trichoderma viride* FP-UNT 01 a partir de una solución ideal de sulfato de plomo (II) a las tres y seis horas de tratamiento. a = p > 0.05, no existe diferencia significativa. a: adsorción de Pb²⁺

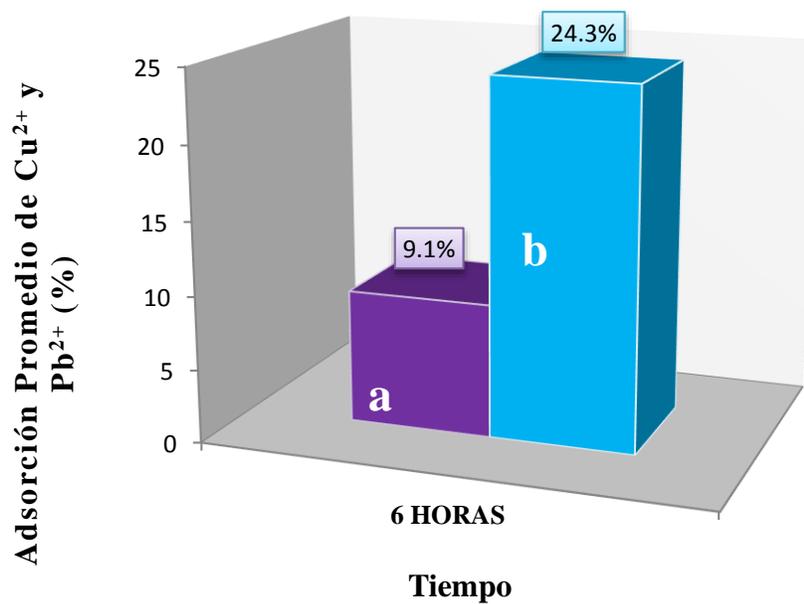


Fig. 3. Comparación porcentual de la adsorción promedio de ión cúprico (Cu²⁺) y plumboso (Pb²⁺) por pellets de *Trichoderma viride* FP-UNT 01 a partir de soluciones ideales a las seis horas de tratamiento. a ≠ b; p < 0,05; existe diferencia significativa entre la adsorción de Cu²⁺ y de Pb²⁺ por *T. viride* FP-UNT 01. a: adsorción de Cu²⁺. b: adsorción de Pb²⁺

DISCUSIÓN

Se verificó que *T. viride* FP-UNT 01 adsorbe ambos iones metálicos y probablemente la fijación de los metales se produce casi exclusivamente sobre o en la pared de las células, en la cual participan activamente grupos aminos, carboxilos, hidroxilos, presentes en la quitina, quitosano, glucanos, proteínas, etc.; polímeros que forman las paredes de los hongos y presentan cierta afinidad en la fijación de los iones^{12,23}. Sin embargo, el porcentaje promedio de adsorción de ión cúprico se produce en un porcentaje menor al 10%; esto puede deberse a que los sitios de fijación de los iones en las paredes de los hongos no han sido ocupados completamente por el metal, es decir no llegan a saturarse.

El hecho de que la adsorción de ión cúprico y plumboso entre las tres y seis horas del tratamiento se produce sin diferencia significativa, como lo demostró la prueba estadística, corrobora que la mayor adsorción de *T. viride* FP-UNT 01, tanto para los iones de cobre y plomo se dio dentro de las tres primeras horas de iniciado el tratamiento; como lo demuestra estudios realizados determinando que el equilibrio de adsorción para cobre por *T. viride* se dio en tres primeras horas^{39,40}.

El tiempo para encontrar un buen equilibrio de adsorción es muy importante en este proceso, ya que de esto depende la cantidad de adsorción de los iones; tanto en las Figura 1 y 2 la adsorción ocurrió en las tres primeras horas, pues la diferencia de adsorción con las seis horas es menor del 5% para ambos casos, lo cual se sustenta en que un proceso de adsorción encuentra su equilibrio cuando no se observan cambios en la concentración del metal de la solución mayor a 0,5% de la concentración inicial^{31,34,40}. Muchos autores están de acuerdo en un tiempo de equilibrio de 20 a 60 minutos para la adsorción de metales por la biomasa fúngica bajo condiciones neutras^{2,4,5,40}. Tal vez porque se lleva a cabo bajo condiciones ácidas en el presente trabajo, la adsorción necesitó de tres horas para alcanzar su equilibrio.

Otro parámetro importante en bioadsorción es la fuerza iónica, lo que influye en el tiempo para captar el soluto a la superficie de la biomasa, el efecto de la fuerza iónica puede ser atribuido a la competencia entre los iones, los cambios en la actividad de metal, o las propiedades de la doble capa eléctrica^{31,32,34}. Cuando dos fases, por ejemplo, superficie de la biomasa y de solutos en disolución acuosa, están en contacto, están obligados a estar rodeados por una doble capa eléctrica debido a la interacción electrostática; por lo tanto, la adsorción disminuye con el aumento de la fuerza iónica^{32,34,35,36}, haciendo que al transcurrir las horas la adsorción se mantenga o aumente en una mínima cantidad (Figs 1 y 2); asimismo, esta explicación concuerda con los datos encontrados en donde la comparación porcentual para cada ensayo en algunos casos es menor a la sexta hora cuando debería ser al contrario.

Al prestar atención a la adsorción de *T. viride* FP-UNT 01 a las seis horas, tanto en las figuras 1 y 2, nos damos cuenta que no hay un aumento significativo con respecto a las tres horas, así mismo en algunos ensayos transcurrido este tiempo la adsorción disminuye, siendo probable que exista una pequeña desorción lo cual podría deberse a que, a medida que el pH de la solución aumenta el número de protones se disocian más rápido de los grupos funcionales en la pared celular de los hongos^{35,40}. Lo mismo se determinó que la adsorción de Cu, Cd y Zn por *T. viride* fue 5.5 veces más rápido a un pH de 4, asimismo que es capaz de retener metales en abundante cantidad en su micelio que en sus esporas³⁹, es por eso que en el presente trabajo los pellets utilizados fueron hechos con la mayor cantidad de micelio posible.

La comparación porcentual de la adsorción entre ion cúprico y plumboso, donde observamos que existe diferencia significativa entre la adsorción de los iones de cobre y plomo por *T. viride* FP-UNT 01 habiendo una diferencia del 15.2% a las seis horas de tratamiento; sustentándose en que plomo según estudios realizados encuentra un equilibrio de adsorción sumamente rápido, entre los 10 y 20 min y después de alcanzar el equilibrio la cantidad de adsorción de éste no cambia significativamente con el tiempo³⁵.

Se verificó, también, que si existe adsorción de ion cúprico y plumboso, sin embargo *T. viride* FP-UNT 01 es capaz de adsorber mayor cantidad de ion plumboso que cúprico; esto concuerda con lo reportado por Iskandar cuando al evaluar la bioadsorción de cobre y plomo por hongos filamentosos encontró que el género *Trichoderma* posee mayor capacidad para adsorber Pb(II) que Cu(II)³⁵; también podría deberse a que el flujo de recirculación de la solución fue muy rápido, lo que impidió un contacto ión-sorbente lo suficientemente largo para una adecuada fijación del ión^{39,40}, en el caso de cobre.

T. viride FP-UNT 01 a las seis horas adsorbió solo 9.1% de ión cúprico mientras que de ión plumboso adsorbió el 24.3% notándose que *T. viride* tiene mayor capacidad para absorber plomo; una de las razones sería que existe diferencia en el tamaño iónico de los metales, radios iónicos, potencial de electrodo, la afinidad a los grupos funcionales en los biosorbentes, así como en el modo de interacción entre los iones metálicos y el biosorbente^{35,39}, debido a lo cual pudo adsorber en menor tiempo mayor cantidad de ión plumboso; por el contrario la adsorción de ión cúprico es menor ya que los radicales de la pared de este hongo posiblemente fueron saturados por el metal en contacto más rápido⁴⁰, no quedando espacio para seguir adsorbiéndolo por más tiempo.

CONCLUSIONES

- *T. viride* FP-UNT 01 tiene la capacidad de adsorber ión cúprico y ión plumboso.
- *T. viride* FP-UNT 01 adsorbe mayor cantidad de ión plumboso que ión cúprico.
- La mayor adsorción de ión cúprico y plumboso por *T. viride* FP-UNT 01 ocurrió en las tres primeras horas de iniciado el tratamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sinchi GM. Evaluación del comportamiento ambiental de los contaminantes en residuos sólidos mineros metalúrgicos (RSMM) por el método de extracciones secuenciales y aplicación de modelos de movilidad y transporte. Rev Int Invest UNMSM 2007; 10(19): 78-86.
2. Cañizares VRO. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. Rev Latinoam Microbiol 2000; 42: 131-43.
3. Cuevas GW. Metales pesados en maíz (*Zea mays*) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. Rev Int Contam Ambient 2004; 2(20): 59-68.
4. Cartaya O, Marrero O, Reynaldo I, Peniche C. Adsorción de iones Cu^{2+} por quitosana y su aplicación al suelo para la protección de las plantas ante la toxicidad del metal. Cultivos Tropicales 2008; 29(3): 87-91.
5. Pérez L, Moreno AM, González J. Índices de acumulación de metales pesados en granos y hojas de trigo. Schironia 2004; 3: 5-9.
6. Instituto Nacional de Salud (INS). Censo hemático de plomo y evaluación clínica epidemiológica en poblaciones seleccionadas de La Oroya Antigua, noviembre 2004-enero 2005. Lima 2005.
7. Astete J, Cáseres W, Gastañeda MC, Lucero M, et al. Intoxicación por plomo y otros problemas de salud en niños de poblaciones aledañas a relaves mineros. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2009; 26(1): 15-19.
8. Pebe G, Villa H, Escate L, Cervantes G. Niveles de plomo sanguíneo en recién nacidos de La Oroya, 2004-2005. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2008; 25(4): 355-60.
9. Vega JM, Salinas JE, Gutiérrez MR, Mandamiento RD, et al. Lead levels and cognitive abilities in Peruvian children. Rev Bras Psiquiatr 2006; 28(1): 33-39.
10. Espinoza R, Hernández M, Narciso J, Gastañaga C, et al. Determinants of blood-lead levels in children in Callao and Lima metropolitan area. Salud Publica Mex 2005; 45 (2): 209-219.
11. Ginocchio R, carvallo G, Toro I, Bustamante E, Sepúlveda S. Micro-spatial variation of soil metal pollution and plant recruitment near a copper smelter in central Chile. Environ Pollut 2004; 127: 343-52.
12. Chung B. Control de los contaminantes químicos en el Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2008; 25 (4): 413-18.
13. Ribera H, Chira J, Zambrano K, Petersen P. Dispersion secundaria de los metales pesados en sedimentos de los ríos Chillón, Rímac y Lurín departamento de Lima. FIGMMG 2007; 10(20): 19-25.
14. Huaranga MF, Méndez GE, Quilca LV, Huaranga AF. Contaminación por metales pesados en la cuenca del río Moche, 1980-2010, La Libertad-Perú. Scientia Agropecuaria 2012; 3: 235-47.
15. Bishnoi NR, Kumar R, Bishnoi K. Biosorption of Cr (VI) with *Trichoderma viride* immobilized fungal biomass and cell free Ca-alginate beads. Indian J Med Microbiol 2007; 45: 657-664.
16. Bishnoi NR, Garima. Fungus - An alternative for bioremediation of heavy metal containing wastewater: A review. J Sci Ind Res 2005; 64: 93-100.
17. Mendoza JC, Perea YS, Pretin C, Silveti A, et al. Biosorción de Cromo, Arsénico y Plomo de soluciones acuosas por cultivos bacterianos en suspensión. Rev Lat Amb Cien 2010; 1 (2): 67-73.

18. Cárdenas G, Moctezuma FJ, Acosta R. Aislamiento de hongos resistentes a metales pesados a partir de agua de diferentes ríos de la huasteca potosina. *Rev Acad Inv* 2010; 1: 54-60.
19. Nirmal Kumar JL, Cini O, Kumar RN. Biosorption of Heavy Metals from Aqueous Solution by Green Marine Macroalgae from Okha Port, Gulf of Kutch, India. *Am Eurasian J Agric Environ Sci* 2009; 6 (3): 317-23.
20. Rajiv Kumar A, Gunjan C, Singh Ahluwalia S, Goyal D. Biosorption of Pb²⁺ and Zn²⁺ by Non-Living Biomass of *Spirulina sp.* *Indian J Microbiol* 2010 ; 50(4):438-42.
21. Moyano A, García Sánchez A, Fernández Toirán LM, Charro E. Metales pesados en hongos de áreas contaminadas. *Rev Cien Agr* 2004; 13-22.
22. González Chávez MC, Carrillo González R, Wright SF, Nichols KA. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environ Pollut* 2004; 130: 317-323.
23. Sandana Mala JG, Unni Nair B, Rengarajulu Puvanakrishnan. Bioaccumulation and biosorption of chromium by *Aspergillus niger* MTCC 2594. *J Gen Appl Microbiol* 2006; 52: 179-186.
24. Sun YM, Hornig CY, Chang FL, Cheng LC, Tian WX. Biosorption of Lead, Mercury, and Cadmium Ions by *Aspergillus terreus* Immobilized in a Natural Matrix. *Poll J Microbiol* 2010; 59 (1): 37-44.
25. Ahmad I, Zafar SH, Ahmad F. Heavy metal biosorption potential of *Aspergillus* and *Rhizopus sp.* Isolated from wastewater treated soil. *J Appl Sci Environ Manag* 2005; 9: 123 126.
26. Hussein KA, Hassan SH, Joo JH. Potential capacity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the biosorption of Cd²⁺ and Pb²⁺. *J Gen Appl Microbiol* 2011; 57 (6): 347-55.
27. Tan WS, Ting AS. Efficacy and reusability of alginate-immobilized live and heat-inactivated *Trichoderma asperellum* cells for Cu (II) removal from aqueous solution. *Bioresour Technol* 2012; 123:290-5.
28. Akhtar K, Khalid AM, Akhtar MW, Ghauri MA. Removal and recovery of uranium from aqueous solutions by Ca-alginate immobilized *Trichoderma harzianum*. *Bioresour Technol* 2009; 100 (20): 4551-8.
29. Schwartz JA, Olarte KT, Michalek JL, Jandu GS, et al. Regulation of Copper Toxicity by *Candida albicans* GPA2. *Eukaryotic Cell* 2013; 12 (7): 954-61.
30. Rojas C. 2000. Aislamiento y selección de hongos con capacidad bioadsorbente de Ion ferroso, a partir de relaves frescos procedentes de Corporación Minera Nor Perú- La Libertad. Tesis de Biólogo Microbiólogo. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú.
31. Khalid AH, Sedky HAH, Jin HJ. Potential capacity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the biosorption of Cd²⁺ and Pb²⁺. *J Gen Appl Microbiol* 2011; 57: 347-355.
32. Iskandar NL, Zainudin NA, Tan SG. Tolerance and biosorption of copper (Cu) and lead (Pb) by filamentous fungi isolated from a freshwater ecosystem. *J Environ Sci* 2011; 23 (5): 824 -30.
33. Martínez-Juárez VM, Cárdenas-González JF, Torre-Bouscoulet ME, Acosta- Rodríguez I. Biosorption of Mercury (II) from Aqueous Solutions onto Fungal Biomass. *Bioinorg Chem Appl* 2012; 2012: 156190.
34. Jafari N, Senobari Z. Removal of Pb (II) ions from aqueous solutions by *Cladophora rivularis* (Linnaeus) Hoek. *Scient World J* 2012; 2012:793606.
35. Wang B, Wang K. Removal of copper from acid wastewater of bioleaching by adsorption onto ramie residue and uptake by *Trichoderma viride*. *Bioresour Technol* 2013; 136: 244-50.
36. Kalmykova Y, Strömvall AM, Steenari BM. Adsorption of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn on *Sphagnum* peat from solutions with low metal concentrations. *J Hazard Mater* 2008; 152 (2): 885-891.
37. Dhankhar R, Hooda A. Fungal biosorption – an alternative to meet the challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. *Environ Technol* 2011; 32 (5-6): 467-91.
38. Dönmez G, Aksu Z. Removal of chromium (VI) from saline wastewaters by *Dunaliella* species. *Process Biochem* 2002; 38: 751-62.
39. Argumedo DR, Alarcón A, Ferrera CR, Peña CJJ. El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánico e inorgánico. *Rev Int Contam Ambient* 2009; 25 (4): 257-69.
40. Rojas, C. Aislamiento y selección de hongos con capacidad bioadsorbente de ión ferroso a partir de relave fresco procedente de la corporación minera Nor-Perú. Tesis para obtener el título de Biólogo Microbiólogo 2000. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo-Perú.



Efecto de *Trichoderma viride* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en el crecimiento de *Capsicum Annuum* en condiciones de laboratorio

Effect of *Trichoderma viride* and *Bradyrhizobium yuanmingense* on growth of *Capsicum annuum* under laboratory conditions

Rosa Salinas Ventura y Bertha Soriano Bernilla

¹Tesista, Escuela AP de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú.

²Departamento de Microbiología y Parasitología. UNT

RESUMEN

Se evaluó el efecto de *Trichoderma viride* FP-UNT 01 nativa coinoculado con *Bradyrhizobium yuanmingense* Rc 455-02 en el crecimiento de *Capsicum annuum* "ají paprika" en condiciones de laboratorio. Para lo cual se reactivaron los cultivos microbianos, *B. yuanmingense* en medio agar extracto de levadura manitol rojo de congo a 28°C por 7 días y *T. viride* en agar Sabouraud a temperatura ambiente de 20-22 °C por 4 a 5 días. Los grupos de estudio consistieron en inóculos de *T. viride* y *B. yuanmingense* puros (controles positivos) y combinados (grupo experimental) así como un grupo control negativo inoculado con agua destilada estéril, aplicados a las semillas de *C. annuum* "ají paprika". Se realizó la evaluación a los 20 y 30 días después de la inoculación, en donde se determinó que las plántulas coinoculadas con *T. viride* y *B. yuanmingense* (grupo experimental) presentó valores estadísticamente significativos respecto al control negativo en las variables agronómicas evaluadas como longitud de raíz y peso seco de la parte radicular. El grupo control inoculado con *B. yuanmingense* (control positivo), presentaron valores estadísticamente significativos en comparación con el control negativo para las variables agronómicas evaluadas como: longitud de tallo, hoja, raíz; número de raíces laterales y peso seco de la parte aérea y parte radicular; mientras que el grupo control inoculado con *T. viride* presentó valores estadísticamente significativos respecto al control negativo en las variables agronómicas evaluadas como longitud de raíz, número de raíces laterales y peso seco de la parte radicular.

Palabras clave: *Bradyrhizobium*, *Trichoderma*, *Capsicum annuum*, inoculación

ABSTRACT

The effect of *Trichoderma viride* FP- UNT 01 native coinoculated with *Bradyrhizobium yuanmingense* Rc 455-02 in the growth of *Capsicum annuum* " paprika pepper " in laboratory conditions was evaluated. For microbial cultures which were reactivated *B. yuanmingense* extract agar medium of congo red yeast mannitol at 28 ° C for 7 days and *T. viride* in agar Sabouraud at room temperature of 20-22 ° C for 4 to 5 days. The study groups consisted of *T. viride* inoculum and *B. yuanmingense* pure (positive controls) and combined (experimental group) and a negative control group inoculated with sterile distilled water, applied to the seeds of *C. annuum* " pepper paprika". Assessment at 20 and 30 days after inoculation , where it was determined that seedlings co-inoculated with *T. viride* and *B. yuanmingense* (experimental group) showed statistically significant values relative to negative control in agronomic variables such as length was performed root dry weight of the root part . The control group inoculated with *B. yuanmingense* (positive control), statistically significant values compared with the negative control for agronomic variables such as length of stem, leaf, root; number of lateral roots and dry shoot and root weight part; while the control group inoculated with *T. viride* showed statistically significant values relative to negative control in agronomic variables such as root length, number of lateral roots and root dry weight of the part.

Keywords: *Bradyrhizobium*, *Trichoderma*, *Pisum sativum*, inoculation

INTRODUCCIÓN

El cultivo de *Capsicum annuum* “ají paprika”, la solanácea más importante después de la papa debido a su agradable sabor, poder estimulante y elevado contenido en vitaminas, tiene importancia debido a los altos ingresos económicos que es posible obtener por unidad de superficie con tres destinos de consumo: pimiento en fresco, para pimentón y para conserva^{1,2}. Sin embargo, el sector pimentonero enfrenta dificultades económicas debido a la baja rentabilidad del cultivo debido a las malas prácticas culturales (nivelado, preparación del suelo, rotaciones, trasplante, fertilización, control sanitario, etc.) y a las plagas: insectos (pulguilla, polilla del Pimiento, bicho moro, trips, chinche verde y vaquitas) y nematodos^{3,4,5}.

Los residuos tóxicos productos del uso continuo de pesticidas que afectan la salud de los trabajadores, animales y deterioran el ambiente, ha conducido a la aplicación de controladores biológicos, entre ellos, especies del género *Trichoderma* que posee buenas cualidades para el control de enfermedades causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium*^{5,6,7,8,9,10}. Las especies de *Trichoderma* actúan como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se les atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como vacuolización, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular, encontrados en los organismos con los que interactúa^{7,8,9,10}.

Al mismo tiempo, la producción de leguminosas y hortalizas se ve afectada por las condiciones de bajo contenido de nitrógeno en el suelo que, a pesar de su gran abundancia en el aire, de poco les sirve a las plantas y animales debido a que son incapaces de fijarlo y aprovecharlo; por fortuna, existen microorganismos que sí son capaces de fijar ese nitrógeno atmosférico y transformarlo en compuestos fácilmente asimilables^{9,10,11,12,13}. Se estima que este proceso contribuye entre el 60-80% de la fijación biológica de nitrógeno (f_{bn}) y permite a las plantas leguminosas crecer sin fertilizantes nitrogenados y sin empobrecer los suelos, ya que su uso ha ocasionado graves problemas de contaminación^{9,12,13,14}.

Los organismos que forman simbiosis con plantas leguminosas pertenecen al subgrupo de las proteobacterias: *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* y *Sinorhizobium* (recientemente incluido en *Ensifer*) y se reciben en conjunto la denominación genéricamente de rizobios^{14,15,16}. *Rhizobium* forma nódulos con leguminosas de origen templado, presenta un crecimiento rápido en vida libre y los genes relacionados con la fijación se encuentran en plásmidos, en tanto que *Bradyrhizobium* ha conservado la capacidad de fijar nitrógeno en condición de endosimbiosis en las leguminosas y, por ello, se ha constituido en uno de los microorganismos de mayor utilidad en la práctica agrícola^{17,18}.

Las interacciones entre plantas y las llamadas rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPR) en la rizosfera (rizobacterias), entonces, pueden mejorar los rendimientos de la cosecha en razón de que estimulan directamente el crecimiento de plantas mediante la producción de fitohormonas y mediante el aumento de la absorción de nutrientes, microelementos, y sustancias de utilizad como K, P, en forma de ácido fosfórico y N atmosférico; este proceso, llamado fijación biológica de nitrógeno, sólo se presenta en procariontes y depende de la capacidad de los microorganismos de convertir el N₂ atmosférico en formas asimilables para las plantas (NH₄⁺), para ser incorporado de esta forma a componentes nitrogenados de la célula^{12,20,21,22,23}.

La capacidad PGPR de *Rhizobium* ha sido estudiada por varias décadas, sin embargo, en los últimos años este estudio ha sido intensificado porque la agricultura sustentable demanda mejorar la eficiencia de la fijación de nitrógeno a través del uso de bacterias competitivas capaces de extender la ventaja de las simbiosis a otros cultivos no leguminosas^{24,25,26,27}. Así, por ejemplo, se evaluó el efecto de 19 cepas de *Rhizobium* en la germinación y en el crecimiento de plantas de *Lycopersicon esculentum* en condiciones de invernadero verificándose que varias cepas de *Rhizobium* pueden estimular la germinación de semillas de tomate y promover su crecimiento¹⁶, similares resultados se encontraron en plantas no leguminosas: *R. leguminosarum* bv *trifolii* y *Bradyrhizobium* en raíces de arroz y *R. etli* en raíces de maíz^{21,28}.

En relación a la inoculación mixta de microorganismos, se conoce que *Bradyrhizobium* o *Rhizobium*, en combinación con cepas de *Azotobacter* y *Azospirillum*, promueven el crecimiento vegetal, mejoran la nodulación, la actividad de la nitrogenasa y aumentan el contenido de nitrógeno^{29,30,31,32,33,34,35}. Sin

embargo, el efecto de *Trichoderma viride* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en el crecimiento de *Capsicum annuum* no es conocida.

Considerando que actualmente se pretende disminuir la contaminación producida por el aporte de pesticidas y fertilizantes nitrogenados, la presente investigación busca determinar el efecto de *T. viride* coinoculado con *B. yuanmingense* en el crecimiento de plántulas de *C. annuum* “ají paprika” en condiciones de laboratorio mediante la evaluación de las variables agronómicas: la longitud (de tallo, hoja y raíz), número de raíces laterales, peso seco de la parte aérea y de la parte radicular de las plántulas en mención.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

- Cultivo puro de *Trichoderma viride* FP-UNT 01 nativa caracterizado e identificado en el laboratorio de Fitopatología del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo.
- Cultivo puro de *Bradyrhizobium yuanmingense* Rc 455-02 aislado y caracterizado en el laboratorio de Microbiología Ambiental de la Universidad Nacional de Trujillo, e identificado molecularmente en Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso" de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Semillas certificadas de *Capsicum annuum* “ají paprika” adquiridas de la casa comercial Agrotec, Trujillo, La Libertad
- 10 kg de suelo agrícola obtenido de los campos de cultivo del distrito de Moche.

Reactivación, propagación y estandarización del inóculo de esporas de *T. viride* FP-UNT 01 nativa.

La reactivación de *T. viride* FP-UNT 01 nativa, a partir del cultivo puro se procedió a resembrar por puntura en frascos planos inclinados con Agar Sabouraud (AS), se incubó durante 4 a 5 días a temperatura del laboratorio. Luego se propagó en 3 frascos planos conteniendo AS, se incubó durante 4 a 5 días a temperatura del laboratorio. El inóculo de esporas se obtuvo agregando 20 mL de agua destilada estéril a cada frasco plano con AS que contiene a *T. viride* FP-UNT 01 nativa. Se agitó moderadamente con el fin de liberar las esporas del hongo y la suspensión resultante se colocó en un frasco estéril, luego se determinó la concentración de esporas mediante el recuento en Cámara de Neubauer. Esta suspensión fue diluida con agua destilada estéril hasta obtener 100 mL a una concentración final de 9×10^8 esporas/mL.

Reactivación y propagación del cultivo de *B. yuanmingense* Rc 455-02.

Para la reactivación de *B. yuanmingense*, a partir del cultivo puro se procedió a resembrar en placas petri conteniendo Agar Manitol Extracto de Levadura Rojo de Congo (ELMARC) se incubó durante 7 días a 28 °C. A partir de los cultivos puros de *B. yuanmingense* resembrados, se propagó en cuatro frascos de superficie plana estériles conteniendo Agar Extracto de Levadura Manitol (ELMA) y se incubarán durante 7 días a 28°C.

Estandarización de la suspensión bacteriana de *B. yuanmingense* Rc 455-02.

A partir de los cultivos propagados se realizó la suspensión de *B. yuanmingense* en un volumen de 10 mL de SSF, se diluyó hasta obtener 100 a una concentración aproximada de 1.2×10^9 UFC/mL, comparando con el tubo N° 04 del sistema de Mac Farland. Luego se hizo diluciones seriadas de la suspensión y la siembra de 0.1 mL por superficie en placas conteniendo agar ELMARC luego se incubaron a 28 °C por 7 días para realizar el recuento en placa y obtener el inóculo inicial, el cual nos dio 1.9×10^9 UFC/mL.

Obtención y preparación del suelo agrícola para los tratamientos de estudio.

El suelo que se utilizó fue de uso agrícola. Se recolectó 10 Kg de suelo, tomando a partir de 2 cm de la superficie hasta una profundidad de 15 cm, el cual se tamizó; esterilizó en autoclave a 121 °C a 15 lb de presión por 15 minutos por 3 veces, luego fue secado a 60 °C por 24 horas en el horno. Se determinó los parámetros físicos y químicos del suelo como: textura, pH, materia orgánica, concentración de nitrógeno, fósforo y potasio en Laboratorio de Servicios a la Comunidad e Investigación (LASACI) de la Universidad Nacional de Trujillo. Finalmente se distribuyó 10 g de suelo en cada pocillo del germinador.

Tratamiento y porcentaje de germinación de las semillas de *C. annuum*

Las semillas se lavaron dos veces con agua de mesa, posteriormente con agua destilada estéril (ADE), después fueron sumergidas en alcohol al 70% durante 45 segundos y se lavaron cinco veces con ADE; luego se sumergieron en hipoclorito de sodio al 2 % por 2 minutos y finalmente se lavó con ADE cinco veces. Luego de la desinfección de las semillas se colocaron 50 semillas en placas Petri conteniendo 1 capa de papel filtro sobre una base de algodón humedecido con agua destilada estéril hasta observar el 86 % ó 100% de germinación.

Inoculación de semillas germinadas de *C. annuum* con *B. yuanmingense* Rc 455-02 y esporas de *T. viride* FP-UNT 01 nativa.

Al transcurrir 6 días y observar que las semillas han germinado, se seleccionaron por uniformidad en tamaño y color para inocular *B. yuanmingense* y *T. viride* según los grupos de estudio definidos. Se utilizó 240 semillas las cuales fueron distribuidas en 120 semillas para tres repeticiones en la primera evaluación a los 20 días y 120 semillas para tres repeticiones en la segunda evaluación a los 30 días.

Grupos Controles

- **Control negativo (C₀):** se inoculó 1mL de agua destilada estéril a cada semilla germinada.
- **Control positivo 1 (C₁):** se inoculó 1mL de la suspensión de *B. yuanmingense* en concentración de 1.2×10^9 UFC/mL a cada semilla germinada.
- **Control positivo 2 (C₂):** se inoculó 1mL de la suspensión de esporas de *T. viride* en concentración de 9×10^8 esporas/mL a cada semilla germinada.

Grupo experimental (G_E): Se inoculó 0.5ml de la suspensión de *B. yuanmingense* en concentración de 1.2×10^9 UFC/mL y 0.5ml de la suspensión de esporas de *T. viride* en concentración de 9×10^8 esporas/mL a cada semilla germinada.

Siembra de semillas de *C. annuum*

Cada semilla inoculada fue sembrada en un respectivo pocillo del germinador conteniendo 10 g de suelo agrícola estéril, a una profundidad de 1 cm. Se mantuvo una temperatura aproximada de $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2$ y se regó periódicamente con 1 mL de solución nutritiva de Jensen modificada libre de nitrógeno, diluida al $\frac{1}{4}$.

Evaluación del efecto de *B. yuanmingense* Rc 455-02 y coinoculado con *T. viride* FP-UNT 01 nativa en el crecimiento de *C. annuum*

Transcurrido 20 y 30 días después de inoculadas las semillas germinadas se realizó la primera y segunda evaluación respectivamente. Para ello se cosecharon las plántulas de *C. annuum* y se lavaron con agua corriente para eliminar los restos de suelo, luego se realizó la evaluación del efecto de *B. yuanmingense* y *T. viride* por separado y mezcla de ambos, para lo cual se obtuvo los valores de las seis variables agronómicas como: longitud de tallo, hoja, raíz, número de raíces laterales, peso seco de la parte aérea y de la parte radicular del vegetal.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se procesaron mediante la prueba de Análisis de Varianza Unidireccional (ANOVA) y la Mínima Diferencia Significativa (MDS) o llamada prueba de Tukey, para determinar las diferencias significativas de cada variable agronómica entre los grupos experimentales con respecto al control.

RESULTADOS

En relación a la longitud promedio de tallo de las plántulas de *C. annuum* “ají paprika” a los 20 y 30 días después de la inoculación (Fig. 1), se observó que los valores obtenidos en el grupo experimental: *T. viride* coinoculado con *B. yuanmingense* son semejantes en comparación con el control inoculado con *T. viride* y el control negativo, y menor en comparación con el control inoculado con *B. yuanmingense* ($p > 0.05$).

Respecto de la longitud promedio de hoja de las plántulas a los 20 y 30 días después de la inoculación (Fig. 2), se observó que los valores obtenidos en el grupo experimental: *T. viride* coinoculado con *B. yuanmingense* son semejantes al control inoculado con *T. viride* y el control negativo y menor comparado con el control inoculado con *B. yuanmingense* ($p > 0.05$).

El análisis del promedio de longitud de raíz de las plántulas a los 20 y 30 días después de la (Fig. 3) permitió observar que los valores obtenidos en el grupo experimental: *T. viride* coinoculado con *B. yuanmingense* son semejantes comparados con el control inoculado con *T. viride* y estos dos a su vez son mayores comparados con el control negativo ($p < 0.05$) pero menores comparados con el control inoculado con *B. yuanmingense* ($p > 0.05$).

En la Fig 4 se muestra el promedio del número de raíces laterales de las plántulas a los 20 y 30 días después de la inoculación. Se observa que los valores obtenidos en el grupo experimental: *T. viride* coinoculado con *B. yuanmingense* son menores en comparación a los control inoculados con *B. yuanmingense* y con *T. viride* respectivamente y semejante al control negativo ($p > 0.05$).

En la Fig. 5 se muestra el promedio del peso seco de la parte aérea de las plántulas a los 20 y 30 días después de la inoculación. Se observa que los valores obtenidos en el grupo experimental: *T. viride* coinoculado con *B. yuanmingense* son semejantes en comparación con el control inoculado con *T. viride* y el control negativo, y menor en comparación con el control inoculado con *B. yuanmingense* ($p > 0.05$).

En la Fig. 6 se muestra el promedio del peso seco de la parte radicular de las plántulas a los 20 y 30 días después de la inoculación. Se observa que los valores obtenidos en el grupo experimental: *T. viride* coinoculado con *B. yuanmingense* son semejantes en comparación con el control inoculado con *T. viride* y estos dos a su vez son mayores en comparación con el control negativo ($p < 0.05$) pero menores en comparación con el control inoculado con *B. yuanmingense* ($p > 0.05$).

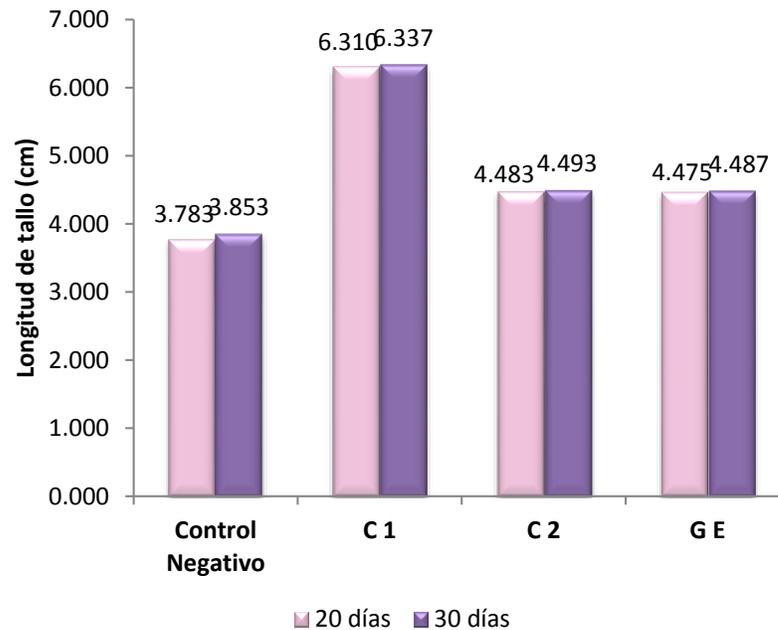


Fig. 1. Longitud promedio del tallo de *Capsicum annuum* “ají paprika” a los 20 y 30 días de coinoculadas con *Trychoderma viride* FP - UNT 01 y *Bradirhizobium yuanmingense* Rc 455 – 02 (GE) en comparación con los grupos controles inoculados *B. yuanmingense* Rc 455 – 02 (C1), *T. viride* FP - UNT 01 (C2) y un control negativo en condiciones de laboratorio ($p < 0,05$).

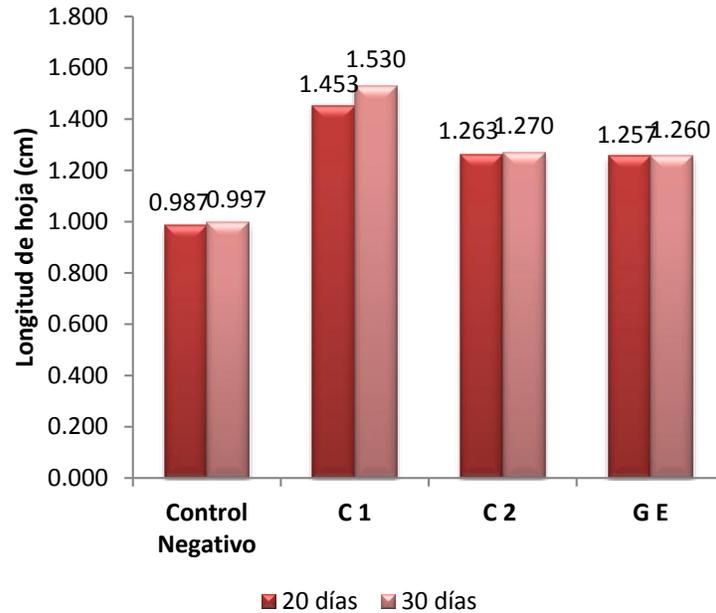


Fig. 2. Longitud promedio de hojas *Capsicum annuum* “ají paprika” a los 20 y 30 días de coinoculadas con *Trichoderma viride* FP - UNT 01 y *Bradirhizobium yuanmingense* Rc 455 – 02 (GE) en comparación con los grupos controles inoculados *B. yuanmingense* Rc 455 – 02 (C1), *T. viride* FP - UNT 01 (C2) y un control negativo en condiciones de laboratorio ($p < 0,05$).

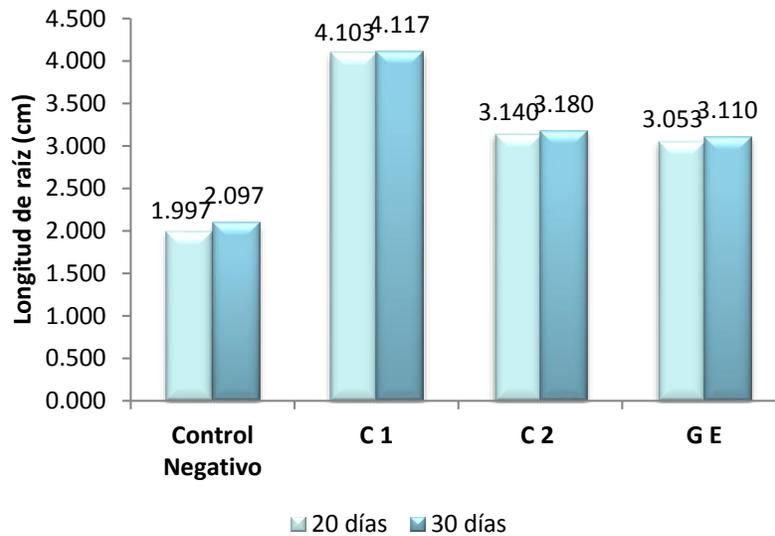


Fig. 3. Longitud promedio de raíz de *Capsicum annuum* “ají paprika” a los 20 y 30 días de coinoculadas con *Trichoderma viride* FP - UNT 01 y *Bradirhizobium yuanmingense* Rc 455 – 02 (GE) en comparación con los grupos controles inoculados *B. yuanmingense* Rc 455 – 02 (C1), *T. viride* FP - UNT 01 (C2) y un control negativo en condiciones de laboratorio ($p > 0,05$).

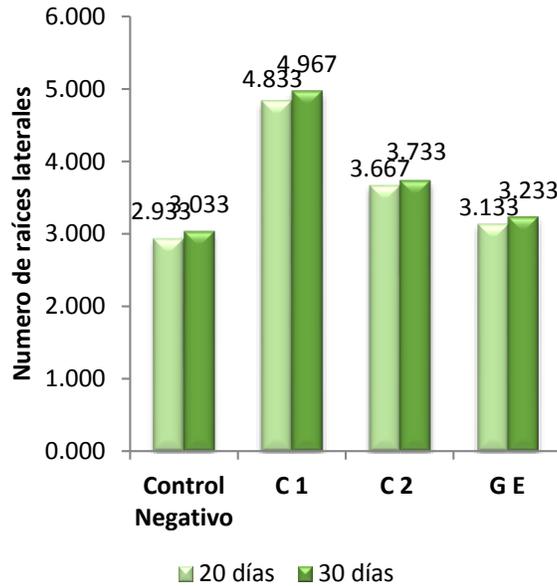


Fig. 4. Promedio del número de raíces laterales de *Capsicum annuum* “ají paprika” a los 20 y 30 días de coinoculadas con *Trichoderma viride* FP - UNT 01 y *Bradirhizobium yuanmingense* Rc 455 – 02 (GE) en comparación con los grupos controles *B. yuanmingense* Rc 455 – 02 (C1), *T. viride* FP - UNT 01 (C2) y un control negativo en condiciones de laboratorio ($p < 0,05$).

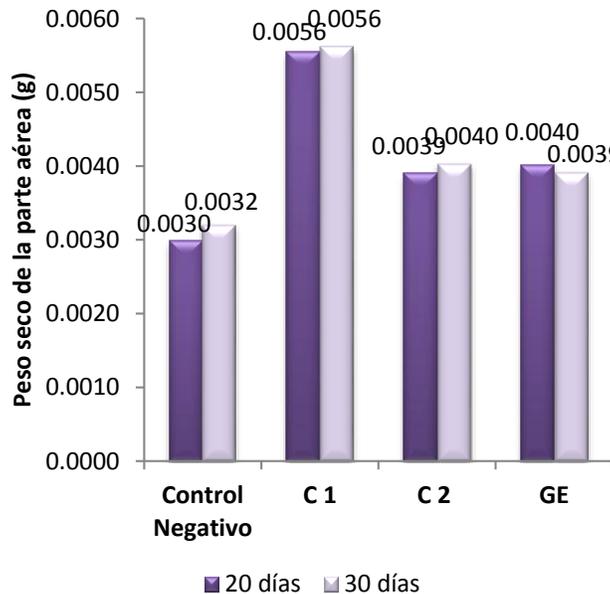


Fig. 5. Promedio de peso seco de la parte aérea de *Capsicum annuum* “ají paprika” a los 20 y 30 días de coinoculadas con *Trichoderma viride* FP - UNT 01 y *Bradirhizobium yuanmingense* Rc 455 – 02 (GE) en comparación con los grupos controles *B. yuanmingense* Rc 455 – 02 (C1), *T. viride* FP - UNT 01 (C2) y un control negativo en condiciones de laboratorio ($p < 0,05$).

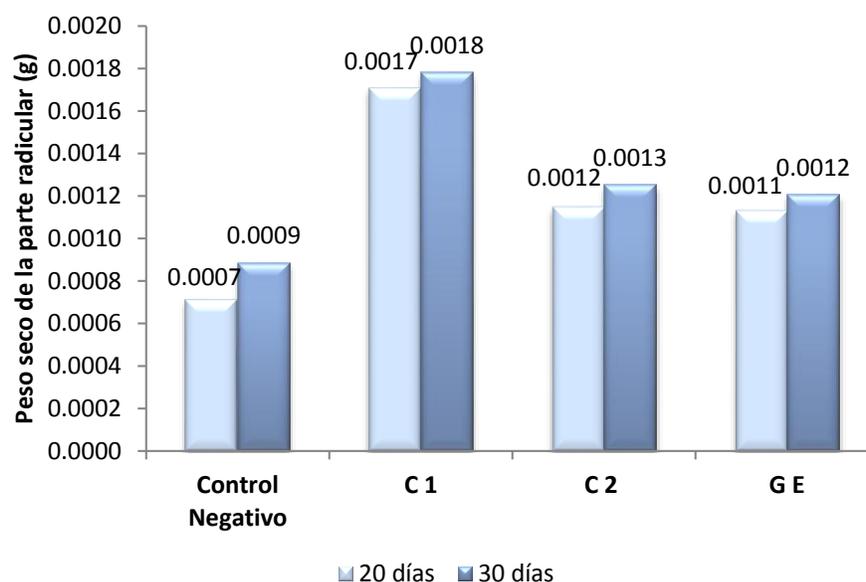


Fig. 6. Promedio peso seco de la parte radicular de *Capsicum annuum* “ají paprika” a los 20 y 30 días de coinoculadas con *Trichoderma viride* FP - UNT 01 y *Bradirhizobium yuanmingense* Rc 455 – 02 (GE) en comparación con los grupos controles *B. yuanmingense* Rc 455 – 02 (C1), *T. viride* FP - UNT 01 (C2) y un control negativo en condiciones de laboratorio ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Hoy en día, los biofertilizantes son considerados como un componente del manejo integrado de la nutrición vegetal y han sido definidos como sustancias que contienen microorganismos vivos que al aplicarse a las semillas, superficie de las plantas o al suelo, colonizan la rizosfera o el interior de la planta y promueven su crecimiento aumentando la disponibilidad de los nutrientes y la sanidad vegetal en la planta hospedera^{26,30,31}.

Las plántulas de *C. annuum* “ají paprika” coinoculadas con *T. viride* y *B. yuanmingense* no mostraron valores estadísticamente significativos para las variables evaluadas: longitud de tallo, hoja, número de raíces laterales y peso seco de la parte aérea en comparación con los tres grupos controles. Estos resultados pueden deberse a la existencia de la llamada competencia biológica donde hay interacción biológica entre seres vivos en donde se descubre que la adecuación biológica de uno es reducida a consecuencia de la presencia del otro al disputarse alguna fuente de nutrientes o ubicación espacial^{16,33}.

El término ‘competencia’ comprende un enorme rango de fenómenos. De allí se entiende que la adaptación de *T. viride* contribuyó al éxito competitivo con *B. yuanmingense*. Dado que es en la rizósfera, uno de los principales sitios donde se presentan microorganismos, específicamente funcionales, como fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfatos, promotores del crecimiento vegetal, biocontroladores y especies patógenicas, normalmente, compiten por espacio y por nutrientes^{34,35}.

Existe una amplia gama de interrelaciones entre especies de microorganismos en los ecosistemas, tales como sinérgicas, antagónicas, de competencia física y bioquímica; y la multifuncionalidad de estos en los sistemas agrícolas, se expresa de acuerdo a una serie de factores bióticos, como la competencia con otros microorganismos, la composición biológica del suelo, el reconocimiento planta-microorganismo y viceversa. Igualmente, factores abióticos, como la climatología, las características físicas y químicas del

suelo, que influyen directamente en el tipo de interacción de estos organismos y la expresión de los efectos benéficos o detrimentales, determinantes en el desarrollo de las especies vegetales^{8,15,24}.

La interacción de las rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPR) como *B. yuanmingense* y hongos del género *Trichoderma*, dependen de este tipo de factores para expresar sus potenciales efectos benéficos; sin embargo, las interacciones entre los microorganismos son complejas y se pueden presentar efectos sinérgicos que potencialicen los beneficios para la planta o por el contrario, como en este trabajo, efectos antagónicos, reflejándose en los resultados donde las plántulas de *C. annuum* “ají paprika” coinoculadas con dichos microorganismos no mostraron efectos estimulante en su crecimiento para algunas variables agronómicas como longitud de tallo, hoja, número de raíces laterales y peso seco de la parte aérea en comparación con los grupos controles. La respuesta de las plántulas a la inoculación depende de las compatibilidades funcionales en la fisiología y en la bioquímica de la interacción, entre los componentes microbianos; así presenta diferentes respuestas, dependiendo de la combinación de los microorganismos^{8,15,24,35}.

Es así que el ejemplo más conocido de antagonismo entre microorganismos es la producción de antibióticos, al disputarse alguna fuente de nutrientes o ubicación espacial. En un estudio químico de los metabolitos antibióticos segregados por *Trichoderma* se demostró que estos son segregados cuando existe una verdadera competencia con otros microorganismos para asegurar su crecimiento y supervivencia en el suelo^{32,35}. Lo cual se comprueba en esta investigación dado que, las plántulas de *C. annuum* “ají paprika” coinoculadas con *B. yuanmingense* y *T. viride* no mostraron efectos en su crecimiento para algunas variables agronómicas, es decir no hay diferencia significativa ($p > 0.05$) respecto a los grupos controles, esto pudo haberse debido a que *T. viride* haya producido metabolitos antibióticos evitando el crecimiento y adecuación de *B. yuanmingense* y por ende su efecto estimulante.

Cabe mencionar que a excepción de *B. yuanmingense*, otras tres especies en este género, *B. japonicum*, *B. elkanii* y *B. liaoningense* por diferencias en sus secuencias de ADN, en los patrones de enzimas metabólicas y de exopolisacáridos, en su contenido de ácidos grasos y hemoproteínas presentan diferencias en sus patrones de resistencia a antibióticos^{9,12,14}, siendo así otra de las posibles causas a que *B. yuanmingense* no haya sobrevivido a la competencia a la que se vio enfrentado con *T. viride* y sus metabolitos antibióticos.

Este efecto no estimulante en plántulas de *C. annuum* “ají paprika” pudo haberse debido también que la coinoculación de *T. viride* y *B. yuanmingense* en semillas germinadas de *C. annuum* fue de 0.5 ml de cada suspensión a una concentración de 9×10^8 esporas/ml y 1.2×10^9 UFC/ml UFC/ml respectivamente, por lo que se infiere que *T. viride* presentó un alto grado de competencia por nutrientes y espacio ante *B. yuanmingense*. Si bien es cierto que las bacterias son los organismos más numerosos en el suelo, los hongos dado su mayor tamaño aunque menor abundancia tienen la mayor biomasa en el suelo la cual bien podría significar mayor necesidad de nutrientes, se debe considerar que *Trichoderma* es un hongo invasor oportunista, que se caracteriza por su rápido crecimiento, por la capacidad de asimilar una amplia gama de sustratos y por la producción de una variedad de compuestos antimicrobianos^{27,28,29,32}. Además la población de bacterias inoculadas siempre disminuye en la rizosfera hasta estabilizarse, esto puede estar relacionado con el cambio de medio de crecimiento, o también que las bacterias, en general, presentan dificultades para adaptarse y desplazarse a lo largo de la raíz³⁰. Como se demuestra en otras investigaciones donde se encontró que cepas de *Azospirillum zea* y *A. canadense* (PGPR) fueron colonizadas por la cepa de *Trichoderma*; es decir hubo interacción negativa, con predominio de *Trichoderma*^{32,35}.

En contraste, las plántulas de *C. annuum* “ají paprika” coinoculadas con de *T. viride* y *B. yuanmingense* mostraron valores significativos en las variables como longitud de raíz y peso seco de la parte radicular en comparación con el control negativo y semejante a unos de los controles positivos donde se inoculó sólo a *T. viride* y menores al control donde se inoculó sólo a *B. yuanmingense*. Algunos investigadores, trabajando con experimentos en macetas, encontraron incrementos en la producción de materia seca debido a la coinoculación respecto de la inoculación simple, aunque este incremento no fue estadísticamente significativo^{33,35}. Otros investigadores informaron acerca de las ventajas de la coinoculación de plantas con rizobios y *Trichoderma* en *Vigna radiata*, leguminosa de importancia en la

alimentación del ganado²⁶. También existen informes sobre las ventajas de la coinoculación de otras bacterias rizosféricas y *Trichoderma* en cultivos de frijol²⁵.

Los resultados de la presente investigación permite afirmar que la coinoculación de *T. viride* y *B. yuanmingense* haya sido compatible debido a que no mostraron valores estadísticamente significativos en comparación al control negativo en otras variables como se mencionó anteriormente. Esto pudo haberse debido al efecto benéfico de *T. viride* solo debido que los valores obtenidos son semejantes al control donde se inoculó a *T. viride* por separado, dado que, este hongo puede encontrarse tanto fuera como dentro de la rizosfera; cuando está dentro de la rizosfera puede colonizar y proteger a la raíces de las plantas, varios autores han señalado el incremento en peso de las plántulas que se desarrollan en presencia de este hongo, otros investigadores encontraron que la coinoculación de hongos con *Azospirillum* sp en tomate, el hongo coloniza la raíz estimulando una mejor absorción de nutrientes²⁵.

Los resultados hasta aquí expuestos, constituyen un aporte al estudio de la relación simbiótica entre hongos-PGPR-hortalizas, como una vía para mantener un estado nutricional adecuado de las plantas de *C. annuum* “ají paprika” con menor aplicación de fertilizante mineral. Es importante mencionar que las plántulas de *C. annuum* “ají paprika” inoculadas con *B. yuanmingense* por separado (control positivo 1) mostraron valores estadísticamente significativos ($p < 0.05$) para todas las variables agronómicas evaluadas en comparación con el control negativo, el control positivo inoculado con *T. viride* por separado y el grupo experimental en el cual está la coinoculación de ambos microorganismos; estos resultados darían a entender que *B. yuanmingense* tiene efecto en el crecimiento de las plántulas de *C. annuum* “ají paprika” siempre que este solo y no en competencia con otros microorganismos y más aún que estos produzca antibióticos.

Estos resultados corroboran lo encontrado por diversos autores con relación al empleo del género *Bradyrhizobium* como lo es en el caso de Díaz Zorita quien encontró incremento en el rendimiento de soja con inoculación simple de *B. japonicum*, otros estudios y ensayos han detectado la acumulación de materia seca aérea y de masa radical es mayor en los casos de soja inoculada con *Bradyrhizobium* que en aquellos que no se ha realizado ningún tipo de biofertilización^[59]. Por otro lado, hay que enfatizar que los efectos de los biofertilizantes en el desarrollo radicular, ayuda a una mayor solubilidad y conductividad de nutrientes; se traducen en un mayor aprovechamiento de la humedad del suelo y, por lo tanto, en el uso más racional del agua y una mayor resistencia a la sequía¹⁴. En otras investigaciones se encontró que la variable altura, también en plantas de soja al momento de la cosecha mostro diferencia con el tratamiento de inoculación simple de *B. japonicum* en comparación a otros tratamientos inoculados con micorrizas y una coinoculación con la cepa de bradyrhizobio¹³.

Se ha atribuido que más de un mecanismo está involucrado en la asociación planta-rizobacteria y lo denominan “hipótesis aditiva” los cuales operan simultáneamente o en asociación^{34,35}. El grupo de las rizobacterias también incluye a *B. yuanmingense* y la actividad de éstas; en general; se inicia con mecanismos de quimiotaxis que están relacionados con la presencia de flagelos, quimiorreceptores y sistemas de regulación codificados genéticamente. Estos factores tienen gran importancia sobre la habilidad de colonizar la rizosfera y mantener la comunicación entre las células de la raíz con estas rizobacterias presentes en el suelo. Las rizobacterias capaces de interactuar con las raíces de plántulas no leguminosas como *C. annuum* son atraídas por sustancias excretadas por la raíz, que ocasionan el movimiento de la bacteria hacia la raíz de la plántula y así dar inicio a una relación benéfica^{17,34}.

Los efectos del uso de tratamientos biológicos con rizobacterias en plántulas se deben a la producción de fitohormonas, las cuales pertenecen a cinco grupos conocidos de compuestos que ocurren en forma natural, cada uno de los cuales exhibe propiedades fuertes de regulación en el crecimiento de las plántulas. En estos grupos se incluyen auxinas, etileno, giberelinas (GA), citocinas y ácido abscísico³⁵.

Es posible que *B. yuanmingense* haya producido estas fitohormonas y así hayan estimulan el crecimiento de los tallos, la densidad y longitud de los pelos radiculares; aumentando la capacidad de absorción de agua y nutrientes, permitiendo que las plántulas sean vigorosas y tolerantes a condiciones climáticas adversas. Por tal motivo, *B. yuanmingense* es un microorganismo capaz de fijar el nitrógeno ecológicamente favoreciendo la nutrición de la plántula cualidad que lo convierte en un microorganismo con capacidad de PGPR^{12,26,28}.

Cabe destacar también que las plántulas de *C. annuum* “ají paprika” inoculada solo con *T. viride* (control positivo 2) presentó valores estadísticamente significativos en las variables evaluadas: longitud de raíz, número de raíces laterales y peso seco de la parte radicular en comparación con el control negativo. Algunos investigadores plantean que existen evidencias experimentales de que *Trichoderma* sp. puede inducir el crecimiento de las plantas, aún en condiciones en que el suelo esté libre de patógenos actuando como bioestimulador; otros investigadores reportaron incremento en el crecimiento y desarrollo que se atribuyen a la obtención de un mayor desarrollo radical, estimulado por el complejo enzimático que se origina en la rizosfera de las plantas ya que en general todas las especies de *Trichoderma* son buenos productores de celulasa^{19,21,23,24,25}.

T. viride tiene la capacidad de biotransformar la celulosa, acelerar la reproducción celular, mineralizar el nitrógeno y algunas proteínas presentes en el suelo, permitiendo que estos procesos biológicos de degradación favorezcan el crecimiento de la planta [68]. Es un hongo, que actúa principalmente como agente antagonista de varias enfermedades en cultivos hortícolas; conjuntamente posee características inductoras de desarrollo de raíces y por consiguiente puede incrementar la productividad de las plantas^{23,25}.

Es difícil entender por completo el funcionamiento de un sistema biológico. La complejidad de las interacciones planta – suelo – microorganismo - ambiente son variadas; una comprensión completa de todas las relaciones en cuestión es poco probable; sin embargo, los efectos benéficos de las interacciones biológicas que estimulan los rendimientos de los cultivos y mejoran la sanidad de las plantas pueden ser evaluados y quedar en evidencia algunas estrategias generales de la interacción. La sustentabilidad de los sistemas agrícolas a largo plazo debe fomentar el uso y manejo efectivo de los recursos internos de los agroecosistemas. En este sentido, los biofertilizantes e inoculantes microbianos, así como los bioestimulantes son un componente vital de los sistemas sustentables, ya que constituyen un medio económicamente atractivo y ecológicamente aceptable de reducir los insumos externos y de mejorar la calidad y cantidad de los recursos internos³⁵. La continuidad de esta línea de investigación, contribuirá al conocimiento más certero de esta práctica agronómica.

CONCLUSIONES

- El control inoculado con *B. yuanmingense* Rc 455-02 presentó efecto estimulante en el crecimiento de las plántulas de *C. annuum* “ají paprika” evidenciándose en el incremento de longitud del tallo, hoja y raíz, número de raíces laterales, peso seco de la parte aérea y peso seco de la parte radicular que se evaluaron a los 20 y 30 días después de su inoculación, mostrando diferencia significativa con el grupo experimental (coinoculación de ambos microorganismos), el control inoculado con *T. viride* y el control negativo.
- El control inoculado con *T. viride* FP-UNT 01 nativa presentó efecto estimulante en el crecimiento de las plántulas de *C. annuum* “ají paprika” reflejándose en el incremento de longitud de raíz, número de raíces laterales, peso seco de la parte radicular evaluadas a los 20 y 30 días después de su inoculación, mostrando diferencia significativa con el control negativo.
- La coinoculación de *T. viride* FP-UNT 01 nativa y *B. yuanmingense* Rc 455-02 presentó efecto estimulante en el crecimiento de las plántulas de *C. annuum* “ají paprika” observándose en el incremento de longitud de raíz y peso seco de la parte radicular evaluadas a los 20 y 30 días después de su inoculación, mostrando diferencia significativa con el control negativo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Montaña N, Cedeño E. Evaluación agronómica de siete cultivares de pimentón (*Capsicum annuum L.*). UDO Agrícola; 2002; 2 (1): 95-100
2. Zúñiga Dávila. Leguminosas y producción de biofertilizantes en el Perú. Ecol Apl. 2006; 5(1,2)
3. Marcela M, Mercedes M, Marcela F. Aislamiento de *Trichoderma sp.* y Actinomicetes a Partir de Suelos de Clavel (*Dianthus caryophyllus* in vitro sobre *Fusarium oxysporum*. f. sp. Dianthi. Agronomía Colombiana. 2002; 19 (1-2): 81-87.
4. Reed MLE, Glick BR. Applications of Free Living Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Antonie van Leeuwenhoek J.G. M. 2004; 86: 1-25.
5. Sandoval I, Lopéz M. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* A-34 hacia *Macrophomina phaseoli* y Otros Patógenos Fúngicos del Fríjol. Fitosanidad. 2002; 4 (3-4): 69-72.
6. Mohammed E, Pérez S, Emilia R, Emilia C. *Trichoderma harzianum* como Biofungicida para el Biocontrol de *Phytophthora capsici* en Plantas de Pimiento (*Capsicum annuum L.*). Anales de Biología 2004; 26: 35-45.
7. Haram S, Schickler H, Oppenheim A, Chet I. Differential Expression of *Trichoderma harzianum* chitinases During Mycoparasitism. Phytopathol. 1996; 86: 980-985.
8. Zimand G, Elad Y, Chet I. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* Pathogenicity. Phytopathol. 1996; 86: 125-126.
9. Russelle MP y Birr AS. Biological Nitrogen Fixation. Large-Scale Assessment of Symbiotic Dinitrogen Fixation by Crops: Soybean and Alfalfa in the Mississippi River Basin, J. Agron. 2004.
10. Bernarda C, Guillermo R, Winston S. Caracterización de cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (con habilidad de nodulación) Seleccionados de los Cultivos de Fríjol caupi (*Vigna unguiculata*) como Potenciales Bioinóculos. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. 2009; 38 (1): 78-104.
11. Soriano BS, Gonzales A, Guevara J, Munsibay JY. Tolerancia de *Rhizobium phaseoli* Cb-9 al herbicida ácido 2,4 diclorofenoxiacético y fungicida Propileno-bis-ditiocarbamato de zinc “Antracol 70PM” en condiciones de laboratorio. REBIOL 2008; 28 (1): 34-34
12. Matos G, Zúñiga D. Comportamiento de Cepas Nativas de Rizobios Aisladas de la Costa del Perú en Dos Cultivares de Pallar (*Phaseolus lunatus* L). Ecol Apl. 2002; 1 (1): 19-24.
13. Matos G, Zúñiga D. Viabilidad de Cepas de Rizobios en Inoculantes Basados en Soportes no Estériles. Ecol Apl. 2003; 2(1): 81-85.
14. Molouba F, Lorquin J, Willems A, Hoste B, Giraud E, Dreyfus B, et al. Photosynthetic *Bradyrhizobia* from *Aeschynomene* spp. are Specific to Stem-Nodulated Species and form a Separate 16S Ribosomal DNA Restriction Fragment Length Polymorphism Group. Appl Environ Microbiol. 1999; 65: 3084-3094.
15. Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okón Y. Plant-Growth Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. Crit Rev Plant Sci. 2003; 22: 107-149.
16. Santillana N, Arellano C, Zúñiga D. Capacidad del *Rhizobium* de Promover el Crecimiento en las plantas de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). Ecol Apl. 2005; 4(1): 47 – 51.
17. Rincon JJ, Clavero T, Razz R, Pietrosevoli S, Mendez F, Noruega N. Efecto de la Inoculación de Cepas Nativas e Introducidas de *Rhizobium* Sobre la Producción de Materia Seca en *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit). Rev Fac Agron. 2000; 17(1): 432-444.
18. Vessey K. Plant Growth Promoting Rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil. 2003; 205-207.
19. Cano MA. Interacción de Microorganismos Benéficos en Plantas: Micorrizas, *Trichoderma* ssp. y *Pseudomonas* ssp. Una Revisión. Rev. U.D.C.A Act. and Div. Cient. 2011; 14 (2): 15 – 31.
20. Marschner P, Timonen S. Interactions between Plant Species and mycorrhizal Colonization on the Bacterial Community Composition in the Rhizosphere. App Soil Ecol. 2005; 28: 23-36.
21. Hoitink J, Madden V, Dorrance E. Systemic Resistance Induced by *Trichoderma* spp.: Interactions between the host, the pathogen, the biocontrol agent, and soil organic matter quality. Phytopath 2006; 96: 186-189.
22. Ghisalberti EL, Sivasithamparan K. Antifungal Antibiotics Produced by *Trichoderma* spp. Sci Biol Biochem. 1991; 11: 1011.
23. Verma M, Brar K, Tyagi D, Surampalli Y, Valéro R. Antagonistic Fungi, *Trichoderma* spp. Panoply of Biological Control. Biochem. Engin 2007; 37: 1-20.
24. Bécquer C, Lazarovits G, Lalin I. Interacción In Vitro entre *Trichoderma harzianum* y Bacterias Rizosféricas Estimuladoras del Crecimiento Vegetal. Rev Cubana Ciencia Agrícola 2013; 47: 97-102.
25. Groppa MD, Zawoznik MS y Tomaro ML. Effect of Co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* on soybean plants. Soil Biol. 1998; 34(2): 75-80.

26. Bécquer CJ, Ramos Y, Nápoles JA y Arioza MD. Efecto de la Interacción *Trichoderma*-rizobio en *Vigna luteola* SC-123. Pastos y Forrajes. 2004; 27: 139.
27. Saber WIA, Abd El-Hai KM. & Ghoneem KM. Synergistic Effect of *Trichoderma* and *Rhizobium* on Both Biocontrol of Chocolate Spot Disease and Induction of Nodulation, Physiological Activities and Productivity of *Vicia faba*. Res J Microbiol. 2009; 4: 286.
28. Clua A, Olgati J, Beltrano J. Evaluación de la doble inoculación *Bradyrhizobium*-micorrizas y el Uso de Fitoterápicos de Semilla en el Crecimiento, Eficiencia de Inoculación y el Rendimiento de un Cultivo de Soja. RIA. 2013; 39 (3).
29. Corbera J, Núñez M. Evaluación Agronómica del Análogo de brasinoesteroides BB-6 en soya, inoculada con *Bradyrhizobium japonicum* y HMA, cultivada en invierno sobre un suelo ferralsol. Cultivos Tropicales. 2004; 25(3): 9-13.
30. Camelo M, Vera S, Bonilla R. Mecanismo de Acción de las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal. Caproica. 2011; 12(2): 159-166.
31. Diaz MA, Suárez PC, Pujol MY, Sánchez E, et al. Efecto de la Aplicación de *Azotobacter chroococcum* sobre el Desarrollo de Posturas de Cafeto (*Coffea arabica* L.). Centro Agrícola 1999; 26 (1).
32. Cupull SR, Sánchez CC, Andreu C, Cupull MC y Pérez NC. Efecto de *Trichoderma* y *Azotobacter* en el Control de *Rhizoctonia solani* y la Estimulación del Crecimiento de Posturas de Cafetos. Rev Fitopat y Entomol 2000; XVII (66): 203-206.
33. Cupull SR, Rodríguez CM, Pérez Navarro C, Delgado Pérez Y, Cupull Santana MC. Efecto de *Trichoderma viride* como estimulante de la germinación, en el desarrollo de posturas de cafetos y el control de *Rhizoctonia solani* Kuhn. Centro Agrícola 2003; 30(1): 21-25.
34. Carrasco MI, Paillán LH, Carrasco SG. Efecto del Uso de *Trichoderma* spp. en Cultivo de Pimentón Orgánico: Desarrollo Vegetativo y Producción, Universidad de Talca Chile. 2011.
35. Harman G, Petzoldt R, Comis A, Chen J. Interactions Between *Trichoderma harzianum* Strain T22 And Maize Inbred Line Mo17 And Effects of these interactions on Diseases Caused By *Pythium ultimum* And *Colletotrichum graminicola*. Phytopath. 2004; 94: 147-153.



Artículo Original

Efecto del purín de hojas de ortiga, *Urtica dioica*, sobre el crecimiento del rabanito, *Raphanus sativus*, en condiciones de laboratorio

Effect of nettle, *Urtica dioica*, slurry-leaves on the growth of radish, *Raphanus sativus*, in laboratory conditions

Leidy Castillo Irigoín¹ y Marlene Rodríguez Espejo²

¹Tesista, Escuela AP de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú. ²Departamento de Ciencias Biológicas. UNT.

RESUMEN

Se determinó el efecto del purín de hojas de *Urtica dioica* L. "ortiga" sobre el crecimiento de *Raphanus sativus* L. "rabanito" en condiciones de laboratorio. El purín se obtuvo de la fermentación de hojas de ortiga y fue aplicado a plantas de rabanito bajo un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos (0%, 20%, 50% y 100%) y tres repeticiones. El tratamiento fue evaluado mediante los siguientes parámetros: número de hojas, longitud de hojas y raíces (cm), diámetro de raíces (cm), peso fresco y seco (g) tanto de hojas como de raíces, a los 45 días de siembra. Se observó que el purín de ortiga mostró efecto positivo sobre los parámetros: crecimiento (para longitud de hoja 23.6 cm, raíz 4.63 cm; teniendo 5 hojas por planta, diámetro de raíz 1.91 cm, peso fresco de hojas 9.75 g, en raíz 1.96g y peso seco hojas 1.2 g y raíz 0.45g) en el tratamiento del 50%. El tratamiento del 100% mostró efecto negativo en la longitud de hojas siendo 18.6 cm y raíz 3.7 cm, en el diámetro de raíz 1.42 cm, teniendo así 4 hojas por planta, peso fresco hojas 6.82 g, raíz 1.22g y peso seco de hojas 0.75 g y en raíz 0.23 g.

Palabras clave: *Urtica dioica*, *Raphanus sativus*, purín, crecimiento, biofertilizante

ABSTRACT

The effect of slurry leaves *Urtica dioica* L. "nettle" on the growth of *Raphanus sativus* L. "radish" in laboratory conditions was determined. The slurry was obtained from the fermentation of nettle leaves and was applied to radish plants under a completely randomized design with four treatments (0%, 20%, 50% and 100%) and three replicates. The treatment was evaluated using the following parameters: number of leaves, length of leaves and roots (cm), diameter of roots (cm), fresh and dry weight (g) in leaves and roots, after 45 days of sowing. It was observed that the nettle slurry showed positive effect on parameters: growth (to 23.6 cm blade length, root 4.63 cm, having five leaves per plant, root diameter of 1.91 cm, fresh weight of leaves 9.75 g, in root 1.96g root dry weight 1.2 g leaves 0.45g) in the treatment of 50%. Treatment showed 100% negative effect on the length of sheet being 18.6 cm and 3.7 cm root in the root diameter of 1.42 cm, thus having 4 leaves per plant, 6.82 g leaf fresh weight, root dry weight of leaves 1.22g 0.75 g and 0.23 g in root.

Keywords: *Urtica dioica*, *Raphanus sativus*, manure, growth

INTRODUCCIÓN

Los preparados vegetales para eliminar plagas, estimular la salud de las plantas cultivadas han sido utilizados de forma tradicional por numerosas culturas de todo el mundo^{1,2,3,4,5}. En los últimos tiempos dentro de la agricultura alternativa, está sobresaliendo el uso de purines, productos que son fruto de fermentaciones de ciertas especies vegetales que tienen utilidad en el mantenimiento de la salud de los cultivos vegetales; estos purines pueden ser, según el grado de maduración y la planta utilizada, productos elicitors, insecticidas, fungicidas, fitoestimulantes o activadores del suelo y el compost^{6,7}.

Según sus ingredientes, los purines tienen diversas aplicaciones, básicamente aportan enzimas, aminoácidos minerales y otras sustancias al suelo y a las plantas, aumentando la diversidad y la disponibilidad de nutrientes para las mismas. Pero mucho más importante que esto es el aporte de microorganismos: mediante la preparación de purines logramos desarrollar "cultivos" de microorganismos, en especial de bacterias^{6,7}. Cada purín es un extracto específico donde se reproducen rápidamente determinados tipos de bacterias en un ámbito propicio para su desarrollo. Cuando regamos el suelo con estos preparados, estamos inoculando, millones de microorganismos que transformarán la materia orgánica del suelo en nutrientes específicos para las plantas. De ese modo mejorará la disponibilidad de nutrientes y por lo tanto la sanidad, el desarrollo y la producción de las plantas⁸.

El purín de hojas de *U. dioica* representa una alternativa eficaz y viable para la agricultura: es rico en calcio, potasio y nitrógeno; este último, está bajo la forma amoniacal en un 40 %, por lo que la planta lo utiliza inmediatamente^{9,10}. Es, en definitiva, un estimulante del crecimiento porque regula el ciclo del nitrógeno, lo que evita posibles carencias de tan valioso nutriente, también evita la clorosis férrica, ya que posee una elevada riqueza en Fe que promueve la formación de clorofila⁹.

U. dioica es una planta arbustiva, perenne, dioica y de aspecto tosco; se le puede encontrar en cualquier lugar donde habite el humano o ganado, crece en huertos, corrales, muros de piedra, en el campo, o en la montaña¹¹. Los tallos y las hojas suelen estar armados de pelos huecos o tricomas llenos de un líquido urticante que contiene ácidos orgánicos, histamina y acetilcolina; estos pelos, terminados en glándulas, son muy quebradizos y, cuando se rompen, inyectan en la piel el líquido que contienen, induciendo una sensación de ardor¹².

La ortiga posee ácidos, fenoles y otros constituyentes como, sitosterol, glicoproteínas, aminoácidos libres como parte de sus metabolitos secundarios^{13,14}; asimismo, Mo y V, que tienen la propiedad de atraer a las bacterias del tipo fijadoras de nitrógeno (por ejemplo *Azotobacter*), estas bacterias a medida que van descomponiendo a la ortiga, van fijando el nitrógeno haciéndolo asimilable para cualquier tipo de planta^{15,16}. Es así que en forma de purín fue aplicado sobre las hojas de las plantas o directamente al suelo, como fertilizante ecológico en cultivos de lechuga Grand rapid "lechuga" bajo condiciones de producción agroecológicas, observándose efectos positivos sobre su rendimiento y calidad^{17,18}, siendo éste el único antecedente al respecto.

Considerando la falta de antecedentes respecto del uso de la ortiga en la mejra de cultivos tradicionales y el rabanito es un producto tradicional de frecuente uso y que se sigue produciendo sin aprovechar de nuevas tecnología ni alternativas, se propuso la presente investigación que estuvo dirigida a determinar el efecto del purín de hojas de *Urtica dioica* "ortiga" en el crecimiento de *Raphanus sativus* "rabanito" en condiciones de laboratorio, mediante los parámetros: longitud de hojas y raíz (cm), diámetro de raíz (cm), número de hojas, peso fresco y seco de hojas y raíces (g).

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

- Plantas de *Urtica dioica* (Urticaceae) recolectadas del distrito de Aramango, provincia de Bagua, departamento de Amazonas (Perú), durante el mes de junio del 2014. La especie fue certificada en el *Herbarium Truxillense* (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo (Perú).
- Semillas certificadas de *Raphanus sativus* adquiridas en un centro Agropecuario formalmente constituido de la ciudad de Trujillo (Perú).

Preparación del purín de *U. dioica*

Las plantas fueron secadas bajo sombra, luego se seleccionaron las hojas y posteriormente se trituraron hasta convertirlas en polvo, a partir del cual se tomó 1,5 kg. Luego fueron diluidas en 15 L de agua destilada dentro de un recipiente de 20L de capacidad, diariamente se procedió a remover por tres veces consecutivas en un lapso aproximado de 20 días. Se consideró listo dicho preparado cuando dejó de existir burbujas, se filtró y luego se guardó en frascos herméticamente tapados a una temperatura de 10 °C hasta su respectivo uso.

Germinación de semillas y obtención de plántulas de *R. sativus*

Las semillas fueron seleccionadas, teniendo en cuenta tamaño, color e integridad física, luego se colocaron en placas Petri medianas con papel humedecido, y regadas con agua destilada hasta que tengan el primer par de hojas verdaderas.

Tratamientos con el purín

Se realizó el trasplante de las plantas de rabanito a los 10 días de haber germinado, siendo sembradas en macetas conteniendo como sustrato una mezcla de tierra fértil la cual fue esterilizada. Se aplicó el diseño experimental completamente al azar con 4 tratamientos y tres repeticiones (contando cada repetición con 20 plántulas, con un total de 60 plántulas por cada concentración aplicada). Para los tratamientos se añadió concentraciones ascendentes de purín de ortiga en las siguientes concentraciones: 0%; 20%; 50%, 100%, sobre la superficie del sustrato de las macetas, luego fueron condicionadas bajo un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, a una temperatura de 22 ± 2 °C. Antes de someterlas al tratamiento las plántulas fueron regadas con agua destilada por espacio de tres días.

Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental completamente al azar, con cuatro tratamientos y tres repeticiones siendo así: 0%, 20%, 50% y 100%. Aplicándose el purín a partir de los 15 días después del sembrado.

TRATAMIENTOS			
0% (agua destilada)	20%	50%	100%
R1	R1	R1	R1
R2	R2	R2	R2
R3	R3	R3	R3

Evaluación

A los 45 días después de sembrado se llevó a cabo la cosecha de los rabanitos y se evaluaron los siguientes parámetros: longitud de raíz y parte aérea de la planta en (cm), diámetro de raíz (cm) para ello se empleó una regla milimétrica, número de hojas por planta, peso fresco y seco de tallo y raíces (g) utilizando una balanza analítica “Kern”. Para el peso seco la muestra se llevó a una estufa durante 3 días a 80 °C y luego se pesó.

Análisis estadísticos.

Los datos fueron sometidos a promedio utilizando el programa Statgraphics Plus 5.1 las variaciones entre tratamientos se determinaron aplicando ANOVA, así como también la prueba múltiple de Tukey para establecer el mejor tratamiento.

RESULTADOS

Se observó, en relación a la longitud promedio de hojas en las plantas de rabanito, que más representativo resultó el tratamiento al 50%, con 23.61cm disminuyendo severamente en el tratamiento al 100%, con 18.6cm (Fig. 1); sin embargo no se encontró significancia estadística entre estos porcentajes ($p>0,05$). Respecto de la longitud promedio de raíz, por su parte, los tratamientos que mostraron menor crecimiento fueron el 20% con 3.62cm. y el 100% con 3.70cm y el mostró el mayor tratamiento también fue del 50% con 4.63cm, igualmente sin diferencias significativas (Fig. 2).

En cuanto al diámetro promedio de raíces (Fig. 3) el tratamiento que menos efecto tuvo en la aplicación del purín fue la del 100% con 1.42cm de diámetro, y las que tuvieron un mayor diámetro fueron el control con 1.59cm y 50% con 1.91cm; en este caso sí hubo diferencias significativas ($p<0,05$), asimismo, en cuanto al número de hojas la que tuvo menor cantidad de hojas fue el tratamiento del 100% teniendo 4 hojas por plantas; mientras que los otros tratamientos tienen 5 hojas (Fig. 4).

En el peso fresco promedio de hojas el tratamiento más representativo fue el de 50% con 9.75g; mientras que el menor fue del 100% con 6.82g. Respecto a su peso seco los tratamientos muestran un peso similar entre ellos, a diferencia del 50% que fue de 1.2g (Fig. 5). Al analizar el peso fresco promedio de raíz el tratamiento que tuvo el mayor peso fue del 50% con 1.96g., quedando así como uno de los valores más elevados en cuanto a concentraciones nos referimos; en el peso seco se puede observar que tanto el tratamiento al 100% con el del 20% tienen pesos muy similares, siendo 0.2 y 0.23g, respectivamente (Fig. 6). Habiéndose regado con frecuencia el extracto, se presentaron algunas deficiencias en las plantas (Fig. 7).

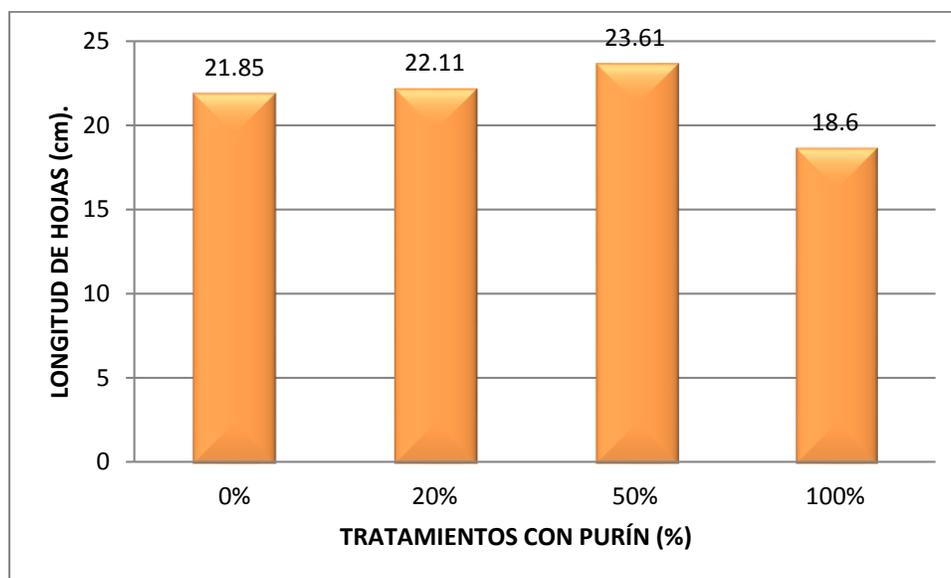


Fig 1. Efecto del purín de *Urtica dioica* “ortiga” sobre la longitud promedio de hojas (cm) de plantas de *Raphanus sativus* “rabanito” en los tratamientos de 0%, 20%, 50% y 100% a los 45 días de evaluación ($p>0,05$).

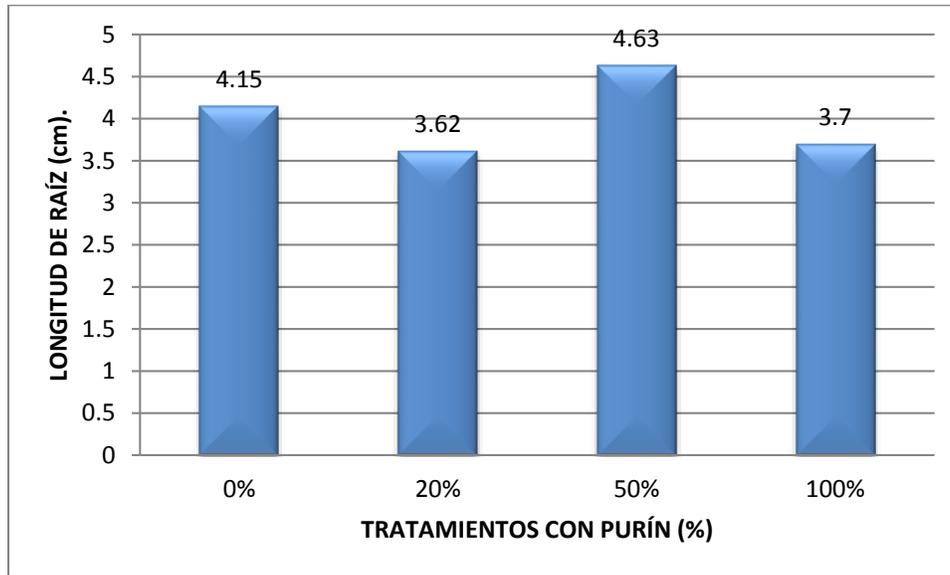


Fig 2: Efecto del purín de *Urtica dioica* “ortiga” sobre la longitud promedio de raíces (cm) de plantas de *Raphanus sativus* “rabanito” en los tratamientos de 0%, 20%, 50% y 100% a los 45 días de evaluación ($p>0,05$).

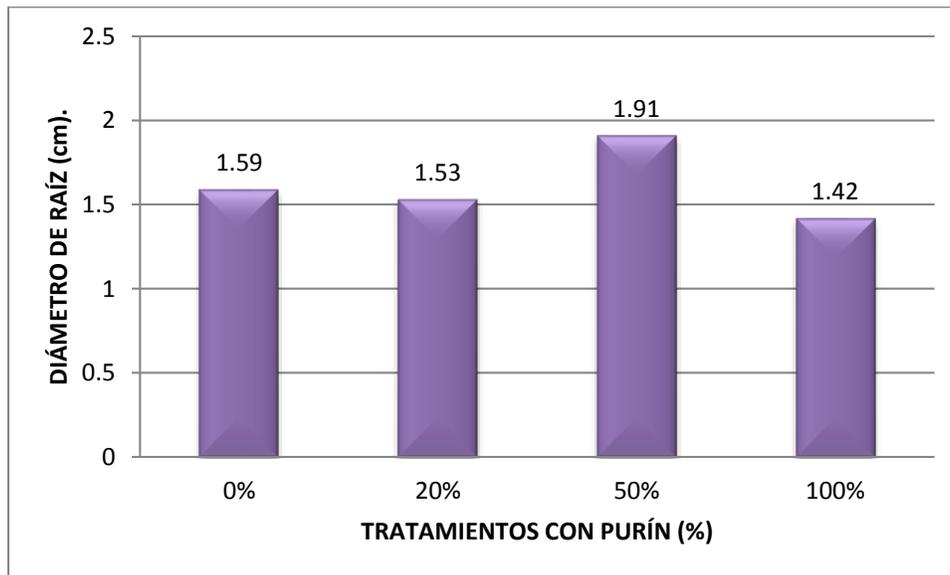


Fig 3: Efecto del purín de *Urtica dioica* “ortiga” sobre el diámetro promedio de raíces (cm) de plantas de *Raphanus sativus* “rabanito” en los tratamientos de 0%, 20%, 50% y 100% a los 45 días de evaluación ($p<0,05$).

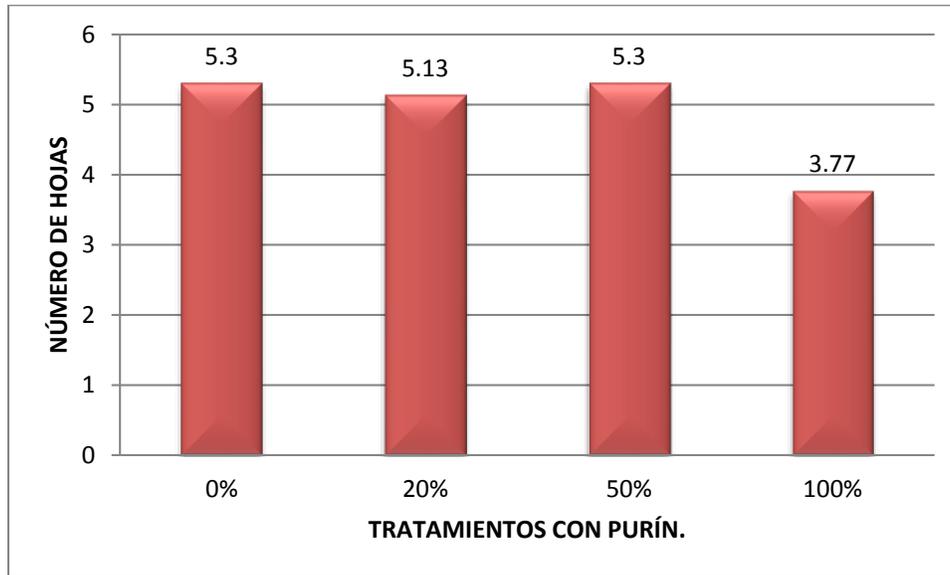


Fig 4: Efecto del purín de *Urtica dioica* “ortiga” sobre el número de hojas de plantas de *Raphanus sativus* “rabanito” en los tratamientos de 0%, 20%, 50% y 100% a los 45 días de evaluación ($p>0,05$).

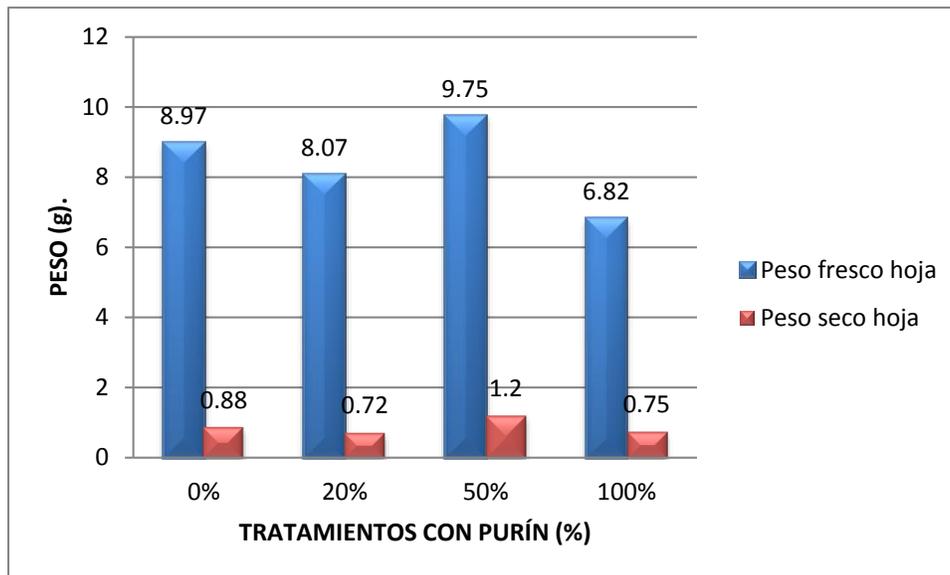


Fig 5: Efecto del purín de *Urtica dioica* “ortiga” sobre el peso fresco y seco de hojas de plantas de *Raphanus sativus* “rabanito” en los tratamientos de 0%, 20%, 50% y 100% a los 45 días de evaluación ($p>0,05$).

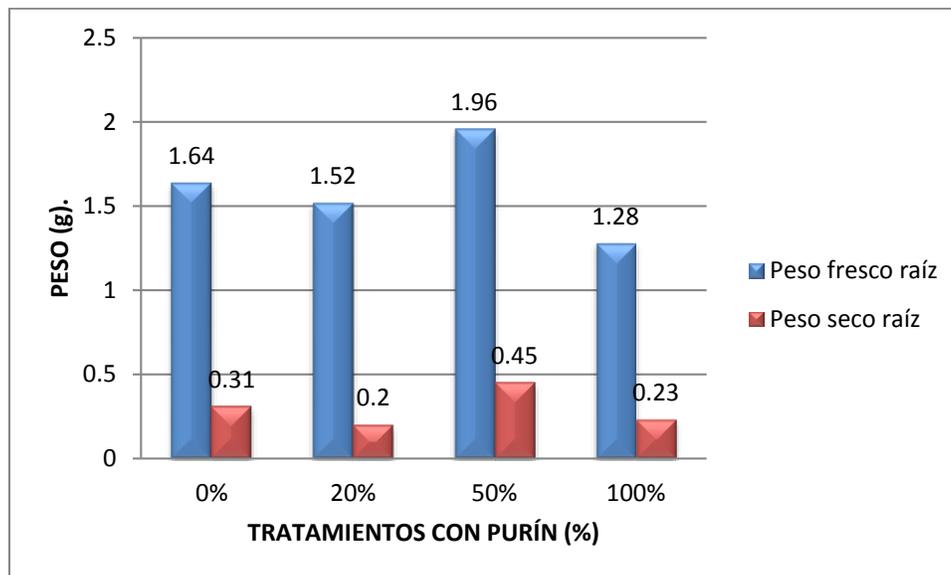


Fig 6: Efecto del purín de *Urtica dioica* “ortiga” sobre el peso fresco y seco de raíces de plantas de *Raphanus sativus* “rabanito” en los tratamientos de 0%, 20%, 50% y 100% a los 45 días de evaluación ($p>0,05$).

DISCUSIÓN

Según los resultados obtenidos el efecto que causa el purin de ortiga en el crecimiento de rabanito, se pudo evidenciar en el tratamiento del 100% a nivel de los parámetros de crecimiento como: longitud promedio de hojas, número de hojas llegando a tener un promedio de 4 hojas por planta; mientras que los otros tratamientos fueron de cinco (Fig. 4). Diámetro de raíz, en los pesos secos de raíz y tallo, apreciándose así mismo clorosis, necrosis en las hojas, retardo en el crecimiento del área foliar, deformación en raíz (Fig. 7), Lo cual podría atribuirse como uno de los factores a la nutrición mineral ya que es uno de los factores que más contribuye para alcanzar un elevado rendimiento y calidad del producto¹⁹; tanto el exceso como las deficiencias de estos nutrientes pueden ocasionar disminución en el crecimiento de las plantas, así como el fosfato se redistribuye de un órgano a otro, acumulándose en las hojas jóvenes²⁰, el incremento de fósforo causa una disminución en el área foliar²¹. Por eso es que tenemos bajo número de hojas; sin embargo no solo tuvimos estas manifestaciones en la parte aérea del cultivo, sino que también se presentaron deficiencias en la parte comestible. Es decir tanto la longitud de raíz como su diámetro se vieron afectados (Fig. 2 y 3). Siendo el diámetro y longitud de raíces grandes influyentes en la apreciación del producto tanto por el productor como para los consumidores¹⁷. A veces estas variables se ven afectadas por factores externos como el suelo, si bien es cierto este producto se adapta a cualquier tipo de suelo, los profundos, arcillosos y neutros son los ideales²². Al complementarse el sustrato (tierra) con el abono ambos podrán brindar mejores resultados a los cultivos; pero si uno de ellos es deficiente, entonces los resultados no serán los esperados²³ El tratamiento que tuvo mejores condiciones, desde el punto de vista agronómico y económico²⁴, pese a que no todos los parámetros presentaron diferencias significativas, fue el del 50%. Y esto se debe a que hay una mejor distribución de los nutrientes, haciéndolo más óptimo para el cultivo. Al estar los nutrientes debidamente distribuidos, permite que el nitrógeno que es un constituyente de un gran número de compuestos orgánicos, incluidas las hormonas de crecimiento²⁵, tenga un mejor efecto en el cultivo de rabanito. Por eso es que ciertas investigaciones indican efectos positivos en el crecimiento de ciertas especies vegetales; mientras que otros elementos son esenciales para especies específicas²⁶.

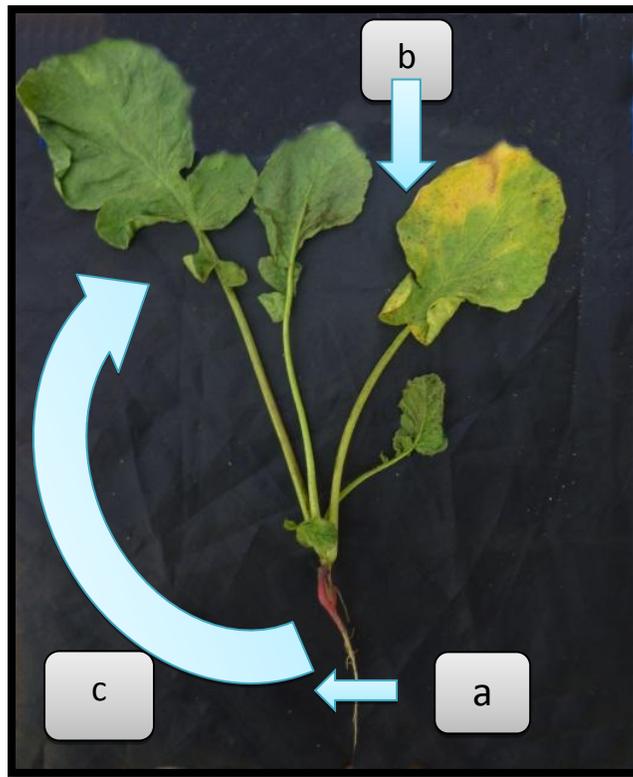


Fig. 7. Efectos en la morfología externa de *Raphanus sativus* L. “rabanito” en la concentración del 100% (a, malformación de raíz; b, clorosis y necrosis en hojas; c, reducción en hojas y raíz).

En cuanto al peso fresco y seco tanto de hojas como de raíces, pese a que solo se mostraron diferencias significativas en el peso seco de raíz, este tratamiento también fue el que tuvo mejores rendimientos. Y se debió a que al aplicar abonos orgánicos al suelo se mejoraron las propiedades químicas del mismo, lo que influyó de forma directa en el incremento de los rendimientos y biomasa del cultivo²⁷. Es decir dependiendo de la concentración de abono, éste incide directamente en el crecimiento, desarrollo y producción del cultivo de rabanito²¹.

Al comparar estos resultados obtenidos así como con el uso de mezclas de agua con biosólidos: suelo, en dosis del 25 al 50%, mejoraron los rendimientos, longitud y número de hojas para el rabanito, en comparación a cuando no se aplicó materia orgánica²⁷. En otros trabajos realizados con abonos orgánicos en rabanito también se observaron valores altos en tratamientos al 50% aunque sin presentar en ningún caso diferencias significativas²⁸. Lo cual se debería principalmente a que en este tratamiento se encuentran las condiciones más cercanas a los requerimientos nutricionales del cultivo de rábano (nitrógeno, fósforo y potasio) siendo más adecuada y equilibrada. Resultando así un claro efecto positivo de este biofertilizante, el cual contribuye a tener una mejor respuesta en el desarrollo del cultivo²⁹.

De forma general, se observa el efecto del purín sobre el cultivar ensayado demostrándose así el potencial que como bioestimulador ofrece, ya que no sólo a sido utilizado en esta especie; sino que también fue empleado en lechuga en la cual a demostrado un efecto positivo a nivel de área foliar, siendo esta parte la más comercial¹⁸. Este preparado también se ha empleado como activador en la germinación de semillas²⁹. Permitiendo así en el futuro utilizarlo como modelo de estudio de biofertilizantes. Debido a su capacidad fijadora de ciertos nutrientes, medida indirectamente a través del efecto en el crecimiento de plantas, permitiendo así demostrar que el purín de ortigas tiene efectos positivos ofreciendo una posibilidad de mejorar los cultivares mediante la no dependencia de la compra de insumos sintéticos³⁰.

CONCLUSIONES

- La aplicación del purín de *Urtica dioica* L. “ortiga” en plantas de *Raphanus sativus* L. “rabanito” mostró un efecto positivo sobre los parámetros de crecimiento (para longitud de hoja 23.6 cm., raíz 4.63 cm.; teniendo 5 hojas por planta, diámetro de raíz 1.91 cm., peso fresco de hojas 9.75 g., en raíz 1.96g. y peso seco hojas 1.2 g. y raíz 0.45g.) en el tratamiento del 50%.
- El tratamiento del 100% mostró un efecto negativo en la longitud de hojas siendo 18.6 cm y raíz 3.7 cm.; en el diámetro de raíz 1.42 cm., teniendo así 4 hojas por planta, peso fresco hojas 6.82 g., raíz 1.22g. y peso seco de hojas 0.75 g. y en raíz 0.23 g.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martínez R. Sistemas de producción agrícola sostenible Tecnología en Marcha. Facultad de agroecología. Universidad de Costa Rica, 2009; 22: 23-39.
2. Ramón V, Rodas F. El control orgánico de los cultivos y la fertilización natural del suelo. Guía práctica para los campesinos en el bosque seco. Naturaleza y cultura internacional. 2007.
3. CAF. Cacao orgánico alternativas de control natural y biofertilizantes. Venezuela. 2008.
4. Kolmans E, Vásquez D. Manual de Agricultura Ecológica Una introducción a los principios básicos y su aplicación: Grupo de Agricultura Orgánica de ACTAF. 1999.
5. Rivera D. La transformación industrial de la producción agropecuaria. Ministerio de Educación y Ciencia. 2004.
6. Ortega R, Alfonzo D, Albán R. Los Purines à Base de Ortiga *Urtica dioica* una Alternativa Natural en el Control de Insectos del Orden Coleóptera. Univ. Bolivariana de Venezuela. 2009.
7. Méndez J. Guía para la instalación y manejo de la huerta. Bogotá: convenio Andrés Bello. 2003.
8. Peña E, Martínez M, Martínez F, Rodríguez A. Producción de Abonos Orgánicos en la Agricultura Urbana. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura tropical de Cuba (INIFAT). 2002.
9. INFOAGRO. Manual de Insecticidas, Fungicidas y Fitofortificantes Ecológicos Agricultura y jardinería ecológica. 2005.
10. Sidoti B, Van A. Usos de la ortiga. Ed. Instituto de Tecnología Agropecuaria. 2010.
11. Broncano FJ, Rebuerta M, Lazaro-Carrasco MJ, Vivas JM. Estudio del efecto sobre musculatura lisa uterina de distintos preparados de las hojas de *Urtica dioica* L. Universidad Nacional de Costa Rica. 2002.
12. Swann C. Las Ortigas medicinas silvestres. Madrid: Edaf- Ediciones y Distribuciones S.A. 1980.
13. Calderón H. Caracterización Fitoquímica, Actividad antibacteriana y Antioxidante de Extractos de Plantas Medicinales utilizadas en Pereira y Santa Rosa de Cabal. Química .Universidad Tecnológica De Pereira. 2011.
14. Paris F, Schauenberg P. Guía de Plantas Medicinales 1ª ed. Barcelona: Omega. 1980.
15. Thun M. Sembrar, plantar y recolectar en armonía con el Cosmos. Madrid: Rudolf Steiner S.A. 2007.
16. Sidoti B, Konijnburg A. Usos de la Ortiga. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Año 5 N° 30. Marzo 2010.
17. Laguna R, Contreras J. Efecto de Biofertilizante (Em-Boskashi) Sobre el Crecimiento y Rendimiento de *Raphanus sativus* “rabanito”. La Calera. pág. 26-29. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Agraria. 2000.
18. León D, Mariani S, Podversich R, Bonetto J, Grosso J. Ensayo de rendimiento y parámetros de calidad en función de la aplicación de purín de ortigas en lechuga Grand Rapid. Facultad de Ciencias Agrarias. Univ. Nac. De Rosario. 2013.
19. Coraspe M. de macronutrientes por plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) en la producción de tubérculo-semilla. Vol. 34 N°1. 2009.
20. Bernal D. Caracterización de las deficiencias de macronutrientes en plantas de cebollín (*Allium schoenoprasum* L.). Fac. de Agronomía. Univ. Nac. De Colombia. 2008; 2(2): 192-204.
21. Ramírez R, Pérez M. Evaluación del potencial de los biosólidos procedentes del tratamiento de aguas residuales para uso agrícola y su efecto sobre el cultivo de rábano rojo (*Raphanus sativus* L.). Univ. Nac. De Colombia, Sede Medellín. Colombia: Medellín. 2006.
22. Martínez F, Sarmiento J. Síntomas de deficiencia de macronutrientes y boro en plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L.). Departamento de Agronomía. Univ. Nac. De Colombia, Bogotá. 2009; 27(2): 169-178.

23. Kirkby E, Romheld V. Macronutrientes en la fisiología de las plantas: funciones, absorción y movilidad. Ecuador: Quito. 2007.
24. Gómez P, Sarmentero J. Efectos sobre el cultivo de rábano rojo (*Raphanus sativus*, L.) de tres fertilizantes orgánicos. E.T.S.I. Agrónomos. Univ. Politécnica de Madrid. 2008.
25. Crillo H, García J. Efecto de la densidad de siembra sobre el crecimiento de plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.) bajo invernadero. Univ. De Nariño, Colombia. 2009; 3(2): 210- 222.
26. Restrepo J. Abonos orgánicos fermentados. Experiencias de agricultores en Centroamérica y Brasil. Costa Rica. 1995.
27. Gómez R, Lázaro G, León JA. Producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y rábano (*Raphanus sativus* L.) en huertos biointensivos en el trópico húmedo de tabasco. Div. Académica de Ciencias Agropecuarias. Univ. Juárez Autónoma de Tabasco. 2007.
28. Tullillo M. Efecto de tres abonos orgánicos líquidos, aplicados al área foliar y al suelo, en el desarrollo del cultivo (*Rosae sp.*) variedad Leonor, en el cantón Pedro Mocado. Bioagro. 2011; 23(2): 93-98.
29. Delgado O. Elaboración de un manual con prácticas agroecológicas enfocándose en la producción de alimentos sanos. Fac. de Ciencias Agropecuarias. Univ. De Cuenca. 2012.
30. Sotelo L. Efecto de inoculación de microorganismos en crecimiento de Rábano (*Raphanus sativus*). Rev. Biotecnología en el Sector Agrario y Agroindustrial. 2012; 10(1): 21-31.



La técnica de ELISA con antígenos del fluido seudocelómico de *Ascaris suum* en el diagnóstico de la ascariasis pulmonar experimental

An ELISA test with *Ascaris suum* seudocelomic fluid antigens for pulmonary experimental ascariasis diagnosis

Rosa Alva Gálvez¹, Elin Alvarado Polo¹, Wilson Casana Mantilla¹, José Quiroz Amaya¹, Miguel Ríos Gutiérrez¹ y César A. Jara²

¹Escuela Académico Profesional de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. ²Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú.

RESUMEN

Producida por *Ascaris lumbricoides* y por *A. suum*, la ascariasis pulmonar se diagnostica mediante reacciones serológicas, para lo cual la calidad y disponibilidad del antígeno resulta ser un aspecto importante. En la presente investigación se determinó la eficacia de la técnica de ELISA-IgG indirecta usando antígenos del líquido seudocelómico (LSAs) de *A. suum* para el diagnóstico de la ascariasis pulmonar en *Mus musculus* machos BALB/c. El LSAs se extrajo de ejemplares hembras de *A. suum* obtenidas de cerdos naturalmente infectados; de estas mismas se obtuvieron huevos, los cuales fueron incubados in vitro en una solución de formol al 2% hasta lograr su condición de infectivos, los cuales (3200/ratón) fueron administrados oralmente a fin de lograr la infección experimental. Los sueros se obtuvieron a los 15 días post infección. Para la técnica se utilizó: 15.82ug/mL del LSAs, los sueros diluidos 1/200 y el conjugado Anti-Mouse IgG (1/1500) (BioRad). Se encontró el 90% de sensibilidad de la técnica ELISA-IgG indirecta utilizando LSAs y sueros de *M. musculus* BALB/c infectados experimentalmente con larvas de *A. suum*.

Palabras clave: Ascariasis pulmonar, líquido seudocelómico, *Ascaris suum*, sensibilidad, ELISA

ABSTRACT

Produced by *Ascaris lumbricoides* and *A. suum*, pulmonary ascariasis is diagnosed by serological reactions, for which the quality and availability of the antigen appears to be an important aspect. In the present study the effectiveness of the technique was determined using indirect ELISA-IgG antigens seudocelómico fluid (LSAs) of *A. suum* in the diagnosis of pulmonary ascariasis in male *Mus musculus* BALB/c. The LSAs were extracted of *A. suum* females obtained from naturally infected pigs; of the same females were obtained eggs, which were incubated in vitro in a solution of 2% formalin to achieve its infective condition, then the eggs (3200 / mouse) were administered orally to achieve the experimental infection. Sera were obtained at 15 days post infection. For the technique performed: 15.82 ug/mL of LSAs, 1/200 diluted sera and the anti-mouse IgG conjugate (1/1500) (BioRad) was used. It was found 90% sensitivity of the indirect IgG ELISA using sera LSAs and *M. musculus* BALB / c experimentally infected with *A. suum* larvae.

Keywords: Pulmonar ascariasis, seudocelomic fluid, *Ascaris suum*, sensibilidad, ELISA

INTRODUCCIÓN

La ascariasis es considerada como la infección parasitaria más común en los seres humanos; *Ascaris*, el agente causal, parasita cerca de 1,4 billones de personas en el mundo -aproximadamente una cuarta parte de la población mundial- y la mayoría de las infecciones se produce en países en vías de desarrollo, con la mayor morbilidad en niños y mujeres embarazadas^{1,2,3}. En niños en edad escolar, esta infección está asociada con pobre estado nutricional y anemia, que es motivo de preocupación ya que incrementa el riesgo de mortalidad^{4,5}.

La ascariasis en humanos se presenta bajo dos formas clínicas: la intestinal, causada por las formas adultas de *A. lumbricoides* y la pulmonar producida por las formas larvarias (L3) tanto de *A. lumbricoides* como de *A. suum*^{4,5,6}. El diagnóstico de la primera se realiza por la observación de huevos del agente etiológico, tanto fértiles como infértiles, en exámenes coproparasitológicos⁶ y de la segunda por métodos serológicos que tienen gran utilidad para apoyar el diagnóstico clínico, que en ocasiones se presenta asociada a alergias, y para efectuar estudios epidemiológicos^{7,8,9,10}.

A pesar de que la ascariasis intestinal se presenta con elevada frecuencia y lo mismo se puede decir de la pulmonar, no se cuenta con una prueba de ELISA estandarizada, tal como ocurre con otras helmintiasis como por ejemplo la cisticercosis^{11,12,13}, más bien, se han hecho estudios para la posible aplicación de la técnica de Western blot utilizando diversos tipos de antígenos^{14,15}. Uno de ellos es, el líquido seudocelómico que ha demostrado tener elevada capacidad antigénica, ser de fácil accesibilidad, obtenerse en elevadas cantidades respecto de otro tipo de antígenos, incluso de formas adultas del parásito muerto^{16,17}.

Considerando la elevada prevalencia de la infección por *Ascaris*, tomando en cuenta que no existen investigaciones ni métodos diagnósticos orientados a la detección de la ascariasis pulmonar, que precede a la intestinal; por ello se propone la búsqueda de métodos alternos que permitan realizar un diagnóstico eficaz de dicha infección. Diversos autores han evaluado la utilización la técnica de ELISA para detección de anticuerpos contra diversos helmintos en sueros, observando buena correlación entre los resultados serológicos y parasitológicos^{11,12,13}. Sin embargo, uno de los problemas que se pueden presentar al utilizar estas técnicas tan sensibles, es que ocurran reacciones inespecíficas cuando se usan extractos crudos del parásito. El objetivo del presente trabajo fue determinar la sensibilidad de la técnica de ELISA usando los antígenos del líquido seudocelómico de *A. suum* en el diagnóstico de la ascariasis pulmonar experimental en *Mus musculus* cepa BALB/c, con la finalidad de obtener una técnica de diagnóstico con un antígeno de fácil acceso, cuando se presenten síntomas pulmonares.

MATERIAL Y MÉTODOS

Recolección de ejemplares hembras adultas de *A. suum*

Del intestino de *Sus acrofa* “cerdo” beneficiados en el Camal Municipal de El Porvenir (Trujillo, Perú) se recolectó 10 ejemplares hembras adultas de *A. suum*, las cuales se colocaron en placas de Petri con SSF 0,85% y lavadas, tres veces por aproximadamente 5 minutos cada vez, antes de ser colocadas en un termos conteniendo la misma solución, tibia los cuales fueron trasladados al laboratorio de Helminología Parasitaria de la Universidad Nacional de Trujillo.

Recolección y conservación de líquido seudocelómico¹⁷

En un ambiente estéril se realizó la extracción del líquido seudocelómico con la ayuda de una jeringa de tuberculina de 1mL. Se introdujo la aguja en la parte posterior de los ejemplares *A. suum* hembras entre el ano y la parte final, a fin de extraer el líquido el cual fue depositado en viales hasta un volumen aproximado de 1 mL/vial y se conservó a -20°C hasta su posterior uso.

Obtención de huevos infectivos de *A. suum*^{16,17}

De los ejemplares hembras de *A. suum* se separó los úteros en placas de Petri, luego, con ayuda de un estilete se rompió las paredes del útero con el propósito de liberar a los huevos. Los huevos obtenidos fueron lavados tres veces con SSF estéril y colocados en tubos con tapa rosca conteniendo una solución de formol al 2% durante 30 días, cambiando la solución diariamente hasta obtener los huevos infectivos (huevos con Larva 2).

Determinación de la concentración de proteínas

La concentración de proteínas del líquido pseudocelómico se determinó por el método colorimétrico de Bradford¹⁸.

Infección experimental en *M. musculus*

Al grupo control de 20 ejemplares de *M. musculus* cepa BALB/ c no se les sometió a ningún estímulo. Mientras que al grupo experimental se inoculó por vía oral 3200 huevos infectivos de *A. suum* en 0,12mL de SSF.

Obtención del suero hiperinmune¹⁹

A las dos semanas de la administración oral de los huevos infectivos se extrajo sangre de cada ejemplar por punción cardíaca de ambos grupos de ratones, se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos para obtener el suero inmune. Se colocó el suero en viales y se conserva a -20°C hasta el momento de su procesamiento.

Técnica de ELISA¹⁹

Se hizo la técnica de ELISA-IgG indirecta, del modo siguiente: (i) las placas de poliestireno en pocillos de fondo plano se sensibilizaron con 50µL de líquido pseudocelómico (15.82 ug/ mL) de *A. suum*, (ii) se incubaron a 4°C durante 18 horas, (iii) se lavó tres veces con 50µL por pocillo de PBS (pH 7.26) y Tween 20(0,05%), durante 5 minutos cada vez, (iv) se bloquearon los sitios de unión inespecíficos con 50µL de leche en polvo (2.5%) diluida en PBS (pH 7.26) y Tween 20(0,05%), (v) se incubó a 37°C durante 1 hora, (vi) se lavó de modo similar a como se hizo en el paso iii, (vii) se agregó el suero (1/200) problema en volumen de 50 µL e incubar a 37°C por 1 hora, (viii) se lavó de modo similar a las anteriores, (ix) se agregó el conjugado Anti-mouse IgG –BioRad- (1/1500), (x) se incubó a 37°C durante 1 hora, (xi) se lavó nuevamente y se agregó 50 µL del sustrato ODP 0,04% en tampón citrato a pH 5,0 y peróxido de hidrógeno 0,03%, (xii) se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos y (iii) se detuvo la reacción enzimática con 50µL de ácido sulfúrico 2N y se realizó la lectura de la absorbancia a 492 nm usando lector de ELISA (Perkin-Elmer) .

Para determinar la sensibilidad se tuvo en cuenta los verdaderos positivos y los falsos negativos²⁰.

RESULTADOS

Se encontró una concentración de proteínas de 4050 ug/mL y la observación de las placas en el lector de ELISA a una adsorbancia de 492 nm mostró nueve reactivos de los 10 probados; en consecuencia: la técnica de ELISA-IgG indirecta mostró una sensibilidad del 90% para detectar anticuerpos producidos en la fase pulmonar de la ascariasis, con los antígenos del líquido pseudocelómico de *A. suum*.

DISCUSIÓN

Los geohelminetos, dentro ellos la ascariasis intestinal, son entidades ampliamente estudiadas y, producto de ello, se conocen las prevalencias en diferentes países, se tiene referencias de su distribución global y se tiene en cuenta respecto de las consecuencias en el niño y madres gestantes parasitados^{1,2,3,4,5}; sin embargo, la ascariasis pulmonar, que precede a la intestinal, no es totalmente conocida. Una de las razones es, que tiene dos agentes etiológicos: *A. lumbricoides* y *A. suum*, de las cuales la primera continúa su ciclo en el intestino (da lugar a la ascariasis intestinal) mientras que la segunda no. Entonces, los métodos parasitológicos tradicionalmente utilizados permiten demostrar la presencia del parásito, por la detección de sus huevos; sin embargo, presentan algunas limitaciones en tres circunstancias, por lo menos: (i)

cuando el parásito aun no produce huevos, (ii) cuando el parasitismo es causado sólo por ejemplares machos y (iii) cuando las larvas pulmonares no corresponden a *A. lumbricoides*.

Es pertinente, entonces, proponer una técnica que permita el estudio de la ascariasis pulmonar que se asocia a trastornos inherentes a la condición infectada de este órgano y a reacciones alérgicas, tanto en países en vías de desarrollo como en los desarrollados^{8,9,10}. La técnica de ELISA resulta ser la primera que surge en plantearse para ello porque: (i) presenta elevada sensibilidad, de modo que resulta de gran utilidad sobre todo para los casos negativos porque permite descartar de plano, la infección por *Ascaris*, (ii) se cuenta con materiales y equipos necesarios para su ejecución y (iii) presenta variables en cuanto al tipo de anticuerpo a detectar y si es directa o indirecta^{19,20}, por lo que ha sido diseñada y evaluada para el diagnóstico de enfermedades de impacto negativo para la salud como son la cisticercosis, hidatidosis y triquinosis^{11,12,13}.

Se ha evaluado el uso de la técnica de ELISA para detección de anticuerpos IgG contra helmintos, obteniendo buenos resultados. Sin embargo, uno de los problemas que se pueden presentar al utilizar técnicas tan sensibles, es que ocurran reacciones inespecíficas cuando se usan extractos crudos del parásito. En el diagnóstico serológico para la infección por *A. suum* se utilizan antígenos somáticos, de excreción- secreción y de superficie^{14,15}.

El estudio de la composición antigénica de diferentes extractos de *A. suum*, permitió comprobar la naturaleza antigénica compleja del líquido pseudocelómico. Diversos autores consideran que el mayor alérgeno de este helminto es ABA-1 (presente en el líquido pseudocelómico)¹⁶, que presenta homología con el antígeno TBA-1 de *Toxocara canis* pero no revela ninguna similitud evidente con cualquier otra proteína de nematodos¹⁷.

La elevada sensibilidad obtenida en el presente estudio demuestra que algunos de los anticuerpos generados debido a la infección por el parásito, fueron específicos contra los antígenos del líquido pseudocelómico de *A. suum*. Esto permite afirmar que en futuras investigaciones podría ser posible utilizar como fuente de antígenos al fluido pseudocelómico, en reemplazo de los antígenos somáticos, de superficie, de excreción-secreción o totales, porque: (i) son más fáciles de obtener, (ii) se adquieren en menor tiempo, (iii) se obtienen en buenas cantidades de áscaris vivas y muertas recientemente y (iv) presentan elevadas concentraciones de proteínas y has demostrado ser altamente antigénicas^{16,17}. Sin embargo, se debe evaluar la sensibilidad utilizando sueros de personas parasitadas en número adecuado, ya que por limitaciones de diversa índole en la presente investigación se examinaron pocos sueros, y dado el caso, la especificidad de dicha técnica utilizando sueros de personas con otras enfermedades.

CONCLUSIÓN

- La técnica de ELISA, usando los antígenos del líquido pseudocelómico de *Ascaris suum*, presenta una elevada sensibilidad en el diagnóstico de la ascariasis pulmonar experimental en *Mus musculus* machos BALB/c.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brookers S, Clements ACA, Bundy DAP. Global epidemiology, ecology, and control of soil-transmitted helminth infections. *Adv Parasitol*, 2006; 62: 221-261
2. Truscott JE, Hollingworth TD, Brooker SJ, Anderson RM. Can chemotherapy alone eliminate the transmission of soil transmitted helminthes? *Parasites & Vectors* 2014; 7: 266
3. Walker M, Hall A; Basáñez GM, Individual oredisoisition, household clustering and risk factors for human infection with *Ascaris lumbricoides*: new epidemiological insights. *PLoS Neg Trop Dis* 2011; 5(4): e1047
4. Solano L, Acuña I, Barón M, Salim A, Sánchez A. Influencia de las parasitosis intestinales y otros antecedentes infecciosos sobre el estado nutricional antropométrico de niños en situación de pobreza. *Parasitol Latinoam* 2008; 63: 12 - 19
5. Rodríguez-Morales A, Bardella RA, Case C, Arria M, et al. Intestinal parasitic infections among pregnant women in Venezuela. *Inf Dis Obstet & Gynecol* 2006; ID: 23125

6. Goodman D, Haji HJ, Bickle QD, Stoltzfus RJ, Tielsch JM, Ramsan M et. al. A comparison of methods for detecting the eggs of *Ascaris*, *Trichuris*, and hookworm in infant stool, and the epidemiology of infection in Zanzibari infants. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76(4):725-731.
7. Ndao M. Diagnosis of parasitic diseases: old and new approaches. *Interdis Perspect on Inf Dis* 2009; ID: 278246
8. Cooper PJ. Interactions between helminth parasites and allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9(1): 29-37
9. Caraballo L, Acevedo N. New allergens of relevance in Tropical Regions: the impact of *Ascaris lumbricoides* infections. *WHO Journal*, 2011; 4: 77-84
10. Izumikawa K, Kohno Y, Hara K, Hayashi H, Maruyama H, Kohno S. Eosinophilic pneumonia due to visceral larva migrans possibly caused by *Ascaris suum*: a case report and review of recent literatures. *Jpn J Infect Dis* 2011; 64(5):428-432.
11. Esquivel-Velázquez M, Ostoa-Saloma P, Morales-Montor J, Hernández-Bello R, Larralde C. Immunodiagnosis of neurocysticercosis: ways to focus on the challenge. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011:516042
12. Flores LA, Rodríguez HP. Estandarización de la prueba de ELISA para el inmunodiagnóstico de hidatidosis humana empleando antígenos de producción local. *Gac Med Bol* 2006; 29(1): 5-10.
13. Contreras MC, Acevedo E, Aguilera S, Sandoval L, Salinas P. Estandarización de la ELISA IgM e IgA para el inmunodiagnóstico de la triquinosis humana. *Bol Chil Parasitol* 1999; 54(4): 104-109.
14. Frontera E, Serrano FJ, Carrón A, Mora JA, Pérez JE, Reina D. Caracterización antigénica de *Ascaris suum* mediante SPG- PAGE y Western Blotting. *Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.* 2001;16 (1): 153-163
15. Escalante H, Liñan R, Davelois K, Diaz E, Huamanchay O. Antígenos de larvas pulmonares de *Ascaris suum* reconocidos por anticuerpos producidos en *Oryctolagus cuniculus*. *Parasitol Latinoam* 2005; 60:132-137
16. Leiva Varas D, Colina Venegas J, Escalante H, Jara CA. Antígeno del líquido seudocelómico de *Ascaris suum* detectados por Western blot utilizando IgG producidos en *Oryctolagus cuniculus*. *REBIOL* 2012; 32(1): 8-12
17. Arteaga-García M, Jara CA. Antígenos del líquido seudocelómico de *Ascaris suum* detectados por Western blot utilizando IgY producidos en *Gallus gallus* var. Hisex Brown. *REBIOLEST* 2013; 1(2): e58
18. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem* 1976; 72: 248- 254
19. Margni R. Inmunología e inmunoquímica 4ª ed. Edit. Medica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 1990.
20. Biswas R, Parija SC, Narayan SK. DOT-ELISA for the diagnosis of neurocysticercosis. *Rev Med trop S. Paulo*, 2004; 46(5): 249-252



Actividad repelente y tiempo de protección experimental del aceite del endospermo de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) en *Aedes aegypti*

Experimental repellent activity and weather protection of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) endosperm oil in *Aedes aegypti*

Gisela Otiniano Cerna y Judith Roldán Rodríguez

¹Tesista, Escuela AP de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú.

²Departamento de Microbiología y Parasitología. UNT.

RESUMEN

Se determinó la actividad repelente y el tiempo de protección de las concentraciones de 25, 50, 75 y 100% v/v del aceite del endospermo de *Ricinus communis* en *Aedes aegypti*, bajo condiciones experimentales. Se emplearon especímenes hembras de *Ae. aegypti* cepa Rockefeller (control), una población experimental natural procedente de La Esperanza (Trujillo, Perú) de 3-8 días de edad, en estado de inanición durante tres días y especímenes adultos de conejo, *Oryctolagus cuniculus*. En las orejas, se aplicó 1 mL/22.5cm² del aceite a las concentraciones señaladas y se utilizó 50 especímenes por cada concentración, además de los grupos control: positivo (DEET al 20%) y negativo (diluyente: Etanol). La exposición se hizo durante tres minutos a intervalos de 30 min hasta que se produzca la primera picadura. El ensayo se realizó en cuatro repeticiones evaluándose el porcentaje de repelencia y el tiempo de protección. Se encontró que hubo actividad repelente a todas las concentraciones probadas y que el porcentaje de repelencia por la población experimental a la concentración de 100%v/v fue similar al control positivo -DEET ($p>0.05$), con un tiempo de protección ≥ 180 minutos. Para la cepa Rockefeller la concentración del 100%v/v tuvo valor similar al DEET no encontrando diferencia significativa ($P>0.05$) con un tiempo de protección de 180minutos. Se concluye que el aceite del endospermo de *R. communis* tuvo actividad repelente en las concentraciones de 25, 50 75 y 100% v/v y mayor actividad repelente para la población natural La Esperanza a concentración del 100%v/v.

Palabras Claves: *Aedes aegypti*, aceite, *Ricinus communis*.

ABSTRACT

The repellent activity and protection time of the concentrations of 25, 50, 75 and 100 % v/v oil endosperm of *Ricinus communis* in *Aedes aegypti*, under experimental conditions were determined. For this, female specimens were used of *Aegypti Rockefeller* strain and a natural population of La Esperanza 3-8 days old and in a state of starvation for 3 days which were exposed to feed *Oryctolagus cuniculus* " rabbit " was applied one in each ear 1mL/22.5cm² oil concentrations of 25, 50, 75 and 100 % v/v, 50 specimens were used for each concentration, the control positive group(ethanol) and negative group (20% DEET), the exposure time was for 3 minutes at intervals of 30 minutes until the first bite occurs , the assay was performed in four replicates evaluated the percentage of repellency and protection time. A high percentage of DEET repellency as similar statistical analysis was determined by natural population Esperanza at concentrations of 50, 75 and 100 % v/v concentration latter being found no significant difference between them ($p > 0.05$), with a protection time ≥ 180 minutes. For the Rockefeller strain concentration 100% v/v was similar to DEET not found significant difference ($P>0.05$) with a time 180 minutos protection. It is concluded that the oil endosperm *R. communis* have repellent activity at concentrations of 25, 50, 75 and 100% v/v. repellent activity have greater for the natural population Esperanza to concentrations of 100%v/v.

Keywords: *Aedes aegypti*, oil, *Ricinus communis*

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha informado que se presentan 50 millones de infecciones por dengue cada año en el mundo y que, al no existir tratamiento, la mejor forma de lograr reducir su incidencia es eliminando sus vectores: *Aedes aegypti*, mediante la aplicación productos químicos, de preferencia en mosquiteros impregnados y como repelentes¹.

Los repelentes bloquean los receptores del ácido láctico y al ser aplicadas sobre la piel pueden conjugarse con las partes oleosas del manto aéreo debido a la afinidad apolar de su naturaleza química, a la vez el CO₂ y el vapor de agua crean una atmósfera gaseosa necesaria para que estas queden retenidas sobre la piel creando así un efecto desagradable sobre las terminaciones sensitivas de los insectos, así como un bloqueo de la percepción química que utilizan para orientarse, evitando sus picaduras y las enfermedades que ellos ocasionan^{1,2,3}.

Ocimum americanum, *Vitex negundo* y *Cymbopogon winterianus* son plantas que han demostrado tener propiedades repelentes en *A. aegypti* con un tiempo de protección de 5,5; 3 y 6 horas, respectivamente, así como el extracto etanólico de *Citrus sinensis* que mostró un 100% de repelencia en 150 minutos a concentración de 350ppm contra *Anopheles stephensi*, *A. aegypti* y *Culex quinquefasciatus*^{4,5,6,7,8}.

Las semillas de *R. communis*, árbol tropical de hasta 6 m de alto, son elipsoides y jaspeadas, tiene una cubierta dura y quebradiza exterior y otra inferior muy fina de color blanquecino que protege la semilla, cuyo endospermo es blando, compacto y aceitoso que contiene: éster palmítico (1.2%), esteárico (0.7%), araquídico (0.3%), hexadecenoico (0.2%), oleico (3.2%), linoleico (3.4%), linolenico (0.2%), ácido ricinoleico (89.4%) y ácidos dihidroxi esteárico, alcaloides como la ricinina y la toxoalbúmina ricina considerada uno de los venenos más mortíferos naturales cuando se administran por vía intravenosa o inhalada en forma de partículas finas, siendo termosensibles y facilitando su inactivación con calor; al ser calentado a 80 °C durante 10 minutos o a 50°C aproximadamente durante una hora a pH 7.^{9,10,11,12,13,14}.

El aceite extraído de las semillas del ricino contiene terpenoides y alcaloides con actividad repelente contra la hormiga negra común, *Acromyrmex lundii*, y las larvas del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda*, por ello, gracias a sus propiedades repelentes y larvicida, además de su uso en la industria farmacéutica y cosmetológica por su alto porcentaje en ácido ricinoleico y su contenido en vitamina E, han despertado gran interés en la industria^{12,14}.

Se ha identificado al germacreno D, *trans*-cariofileno, biciclogermacreno y germacreno B como los componentes químicos mayoritarios de *R. communis* y se ha determinado efectividad: (i) del aceite esencial con una mortalidad >50% para *Ae. Aegypti*, (ii) del extracto acuoso como larvicida (II, III y IV estadio) en *An. arabiensis* y *Cx. Quinquefasciatus*, (iii) del extracto de semillas como insecticida contra *An. stephensi*, *Cx. quinquefasciatus* y *Aedes albopictus* y (iv) del extracto de hojas como repelente probados en telas contra *Anopheles*^{15,16,17}.

En los últimos años, los aceites botánicos han sido estudiados con el objetivo de evaluar su actividad repelente aprovechando su baja toxicidad frente a diferentes especies de vectores transmisores de enfermedades, debido a que son fácilmente extraíbles, no producen daños ecológicos, son biodegradables y fácilmente catabolizados en el ambiente, poseen baja o no toxicidad hacia vertebrados y no inducen resistencia^{18,19,20,21,22,23,24}. En este contexto, se propuso una investigación que estuvo encaminada a evaluar la actividad repelente de las concentraciones de 25, 50, 75 y 100% v/v de aceite del endospermo de semillas de *R. communis* en *A. aegypti* en condiciones experimentales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

- 350 Especímenes de *Ae. aegypti* colectados en el Sector Pueblo Libre barrio 2 del Distrito La Esperanza, Provincia Trujillo, Región La Libertad, Perú.
- 350 Especímenes de *Ae. aegypti* Rockefeller, proporcionados por el Instituto Nacional de Salud (INS), Lima-Perú.
- 300g de endospermo de Semillas de *R. communis* recolectados del centro poblado San Roberto, Distrito de Chao, Provincia de Virú, Departamento la Libertad.

Obtención de adultos de *Ae. aegypti*

Mediante el uso de cucharones y/o goteros de plástico se colectaron larvas de los criaderos naturales del distrito La Esperanza, La Libertad, Perú. Los especímenes colectados fueron llevados al Laboratorio de Artropodología Parasitaria (LABARTP) de la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), para su identificación taxonómica²⁴; e instalados en el insectario del LABARTP. Las larvas colectadas fueron distribuidas en bandejas (30x24x5cm) identificadas con el nombre de la localidad, conteniendo agua de cloro (agua reposada durante un mínimo de 24 horas); y alimentadas periódicamente con alimento balanceado estéril “purina”. Cuando las larvas pasaron al estadio de pupa, estas se transfirieron a recipientes, de 12x12x5cm con agua de cloro, dentro de jaulas de crianza de 30x30x30cm (las que fueron forradas con tul tupido blanco y que disponían de una manga de 20 cm de diámetro y 30 cm de largo para el manejo interno) hasta que emergieran los adultos, los cuales fueron considerados como progenitores P.

Obtención de huevos de la primera generación filial (F1)²⁵

A partir de los progenitores P, se obtuvieron huevos F1; para ello se les alimentó con una solución glucosada al 10% estéril (como fuente de carbohidratos) que estaban contenidos en frascos de 50 mL de capacidad taponados con algodón; además, a las hembras se les proporcionó como alimento sangre de *Oryctolagus cuniculus* “conejo” para la producción de huevos. Las colonias se mantuvieron a $26.5 \pm 1.5^\circ$ C, $60 \pm 10\%$ de humedad relativa y un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, habitual para la especie. En las jaulas se colocaron recipientes de ovoposición de 6x10x5cm que contenían papel de filtro adheridas en las paredes internas como sustrato de ovoposición, al cual se le añadió agua reposada hasta una altura de 2.5 cm; los papeles se mantuvieron de 2 - 4 días dentro del recipiente para que los huevos logren embrionar. Posteriormente los papeles que contenían los huevos fueron secados a temperatura ambiente y luego colocada en bandejas de agua sin clorar para la obtención de adultos que fue utilizado en el bioensayo.

Obtención de larvas y adultos de *Aedes aegypti* cepa Rockefeller¹⁶

Los huevos de *Ae. aegypti* cepa Rockefeller proporcionado por el laboratorio de Artropodología fueron instaladas en el insectario dentro de bandejas de porcelana de 30x24x5 cm conteniendo 1200 mL de agua libre de cloro hasta los estadio larvario para luego ser alimentadas con alimento balanceado estéril “purina”, para la obtención del estadio de pupa; las cuales serán transferidas en depósitos pequeños a una jaula de crianza con medidas de 30x30x30 cm hasta que emerjan los adultos, cuáles que serán albergados aproximadamente 100 ejemplares con una proporción de 25 machos para 75 hembras, lo que asegurará una adecuada reproducción y buena producción de huevos, a fin de perpetuar la especie. Los adultos fueron alimentados con una dieta a base de solución azucarada y sangre de *O. cuniculus* y mantenidas a una temperatura de $27 \pm 2^\circ$ C, para lo cual se utilizará un sistema de calefacción y una humedad de 70-80 %; para la ovoposición se acondicionarán recipientes de plástico de 10x10x5 cm. con agua libre de cloro³³ y alrededor interior papel filtro. El papel conteniendo los huevos será colocado en recipientes acondicionados para su almacenamiento en un lugar seco y fresco, hasta su utilización. Las hembras de *Ae. aegypti* emergidas de las pupas, serán utilizados para la realización de los respectivos bioensayos para determinar la actividad repelente a concentraciones de 25%v/v, 50%v/v, 75%v/v y 100% v/v de aceite de *R. communis*.

Obtención del aceite del endospermo de semilla de *Ricinus communis*^{13,15}

Las semillas de *R. communis* fueron recolectadas en las zonas de cultivo del centro poblado San Roberto del distrito de Chao, provincia de Virú, Departamento de La Libertad, se seleccionaron manualmente, eligiéndose las semillas secas y ausentes de magulladura que fueron identificadas en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo y posteriormente fueron trasladados al Laboratorio de Ingeniería Química para la extracción del aceite. Antes, las semillas se sumergieron en agua destilada y a ebullición por un período de 30 minutos para desactivar la toxina. Las semillas “desactivadas” se sometieron a un secado al horno una temperatura de 45 °C por un tiempo de 2 horas y luego del proceso de secado de las semillas, se procedió a su descascarillado, el cual se realizó de forma manual con la ayuda de un mortero.

El proceso de extracción del aceite se realizó por medio del método Soxhlet en el cual se utilizó como solvente hexano, en una relación masa/volumen de 1:4 por un tiempo de 2 horas y una temperatura entre 85- 86 °C. Se utilizó 300g de endospermo de *R. communis*. Se utilizó un mortero para triturar los endospermos de *R. communis* luego se pesó 50g de muestra que se colocó dentro de bolsas de 10x8cm hechos de gasa los cuales posteriormente fueron colocados en la cámara al interior del extractor se ensambló las partes del equipo el balón, extractor Soxhlet, el adaptador y el refrigerante. Se procedió a calentar el balón conteniendo 200mL de hexano a una temperatura entre 85-86°C; el proceso es cíclico, por lo que se dejó calentado de 2 horas para extraer todos los lípidos de la muestra, pasado este tiempo se recuperó el solvente a medida que se condensa en la cámara de extracción. Se enfrió el balón conteniendo el aceite para luego colocarlo en la estufa durante una hora, con la finalidad que el hexano se evapore completamente y se obtengan el aceite, luego de una hora en la estufa se dejó enfriar a temperatura ambiente y se anotó el peso del balón conteniendo el aceite. Para este proceso se utilizó un balón de 250mL, se obtuvo el peso del balón vacío al inicio y final del proceso y se determinó el porcentaje de aceite. El aceite extraído se colocó en frascos ámbar y se refrigeró aproximadamente a 10°C hasta su ensayo.

El porcentaje de Aceite se halló por medio de la siguiente formula:

$$\% \text{ Aceite} = \frac{W_{bf} - W_{bi}}{W} \times 100$$

Donde: W_{bi} = Peso del balón vacío (peso inicial); W_{bf} = Peso del balón más la grasa (peso final); W = Peso de la muestra

Preparación de las concentraciones de repelente (etanol) y bioensayo

Se realizaron diluciones con etanol (98.6%) a las concentraciones de 25% v/v, 50% v/v, 75% v/v y 100% v/v.

• Unidades experimentales

Se utilizaron 350 *Ae. aegypti*, cepa Rockefeller, 350 *Ae. aegypti*, población natural La Esperanza, de 3 a 6 días de edad sin alimentación sanguínea. Las cuales fueron colocadas en jaulas de 30x30x30 cm (Anexo 11). Se estableció cuatro grupo experimental 25%, 50%, 75% y 100%; dos grupos controles: Positivo con DEET 20 % (C+) utilizando un repelente sintético marca PREMIER FORTE del Laboratorio FARMAINDUSTRIA S.A. con N° de lote 11205842 y Negativo con diluyente etanol al 98.6%(C-). Se utilizó 30 mL de aceite ensayo. Para cada concentración se utilizaron 50 especímenes hembras de *Ae. aegypti* tanto para cepa Rockefeller como para la población natural de la Esperanza; se utilizó ocho *O. cuniculus* “conejo” y el ensayo se realizó en cuatro repeticiones

• Avidez de ingesta sanguínea

Se determinó colocando 50 hembras de *A. aegypti* en estado de inanición (3días) dentro de una de las jaulas de crianza que contenía a *O. cuniculus* “conejo” de aproximadamente 600g de peso al cual se le dejó expuesta a la picadura las orejas previamente rasuradas. Esta actividad se realizó entre las 18 horas hasta las 20 hs.

• Actividad repelente

Se utilizó las orejas de *O. cuniculus*, fueron desinfectadas con una solución de etanol al 70% y se procedió dejar libre de pelos la zona a evaluar, el resto de la cabeza fue cubierto por una tela gruesa y el

cuerpo colocado dentro de un recipiente adecuado al tamaño del conejo. 1mL del diluyente(C-) usado en la preparación de la prueba de repelente se aplicó de manera uniforme con una pipeta $\approx 22.5 \text{ cm}^2$ del área de cada oreja del conejo (7.5x 3cm), después de secar por 2 minutos se introdujo en la jaula y se adiciono 50 especímenes hembra previamente seleccionados, durante 3 minutos a intervalos de 30 minutos por 3.5 horas); del mismo modo se procedió con el control (+)(Anexo 12) y las concentraciones a evaluar. Luego se contó el número de picaduras en las orejas control durante 3 minutos cada 30 minutos¹⁰. Este ensayo fue realizado en cuatro repeticiones con mosquitos diferentes para cada concentración experimental.

- **Tiempo de protección**

El tiempo de protección, es el tiempo que transcurre desde la aplicación del producto hasta que ocurra la primera picadura^{40,41}. Se estimó el tiempo de protección del aceite por cada concentración y al que presentó actividad repelente satisfactorio (tiempo de protección $\geq 180\text{min}$)^{25,26}.

Cálculo del porcentaje de repelencia (PP)

Se realizó el recuento de mosquitos que son repelidos en cada uno de los ensayos. El porcentaje de repelencia, fue calculada de acuerdo con la fórmula²⁶:

$$PP = \frac{NC - NT}{NC} \times 100$$

Dónde:

Nc= Número de picaduras en el control en determinado período de tiempo; Nt= Número de picaduras en el tratado en el mismo período.

Análisis de datos

Los resultados obtenidos de la actividad repelente del aceite de *R. communis* en *Ae. aegypti* fueron sometidos al análisis de varianza ANOVA y una prueba de comparación de medias TUKEY programa SPSS VERSION 20.0 con un grado de significancia de 0,05 a fin de determinar las diferencias entre las concentraciones y el grupo control.

RESULTADOS

El porcentaje de repelencia contra las picaduras de *Ae. aegypti* cepa Rockefeller se obtuvo mayor repelencia para la concentraciones del 100%, con un porcentaje de repelencia de 86% (Fig 1) encontrándose diferencias significativas con las demás concentraciones ($P < 0.05$), sin embargo valores similares al control positivo (DEET al 20%) no encontrándose diferencia significativa entre ellos para un tiempo de protección de hasta 180 minutos (Fig. 2)

En relación al Porcentaje de repelencia contra *Ae aegypti* cepa Rockefeller hay incremento a medida que aumenta la concentración del aceite de *R communis* (Fig.3) y disminuye con el aumento del tiempo de protección (Fig. 4).

Respecto de la variación del porcentaje de repelencia contra las picadura de *Ae. aegypti* población natural La Esperanza, se encontró actividad repelente para las concentraciones de 50, 75 y 100% (Fig. 6) no encontrándose diferencias significativa entre ellas ($P > 0.05$), y con un tiempo de protección mayor ≥ 180 minutos (Fig. 5). Adicionalmente la concentración del 100% de aceite de *R. communis* tuvo valores de repelencia similares al control positivo (DEET al 20%) no encontrándose diferencia significativa entre ellos ($p > 0.05$) (Fig. 6).

En relación al Porcentaje de repelencia contra *Ae aegypti* población natural La Esperanza incrementa a medida que aumenta la concentración del aceite de *R. communis* (Fig. 7) y disminuyen con el aumento del tiempo de protección (Fig. 8).

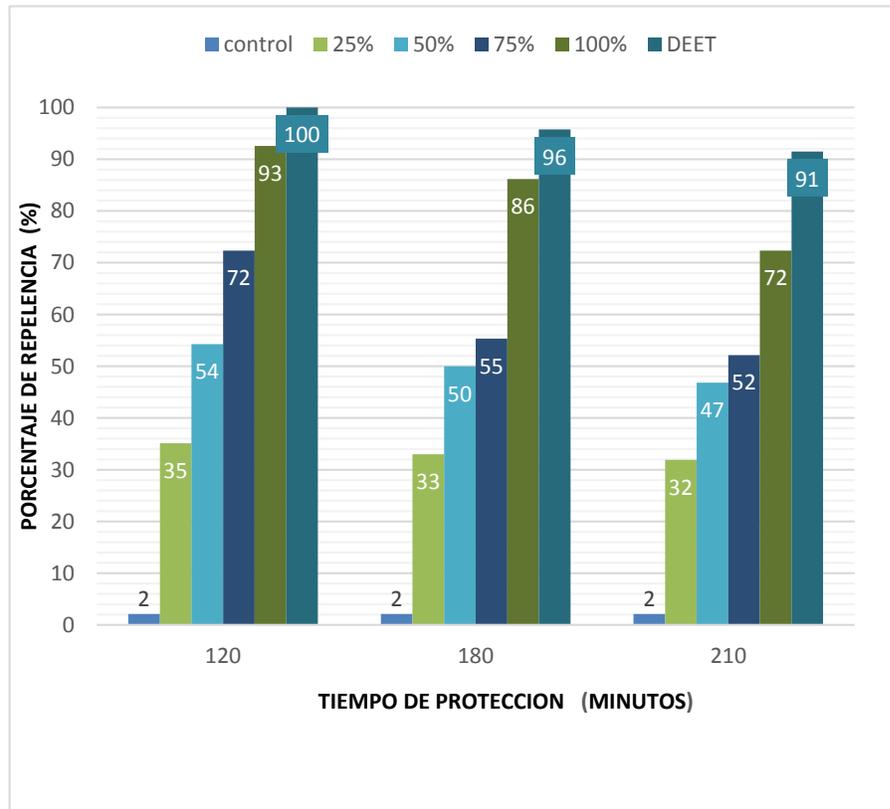


Fig. 1. Porcentaje de Repelencia que brindaron las diferentes concentraciones de aceite de *Ricinus communis* en tres tiempos de Protección contra *Aedes aegypti* cepa Rockefeller (P<0.05)

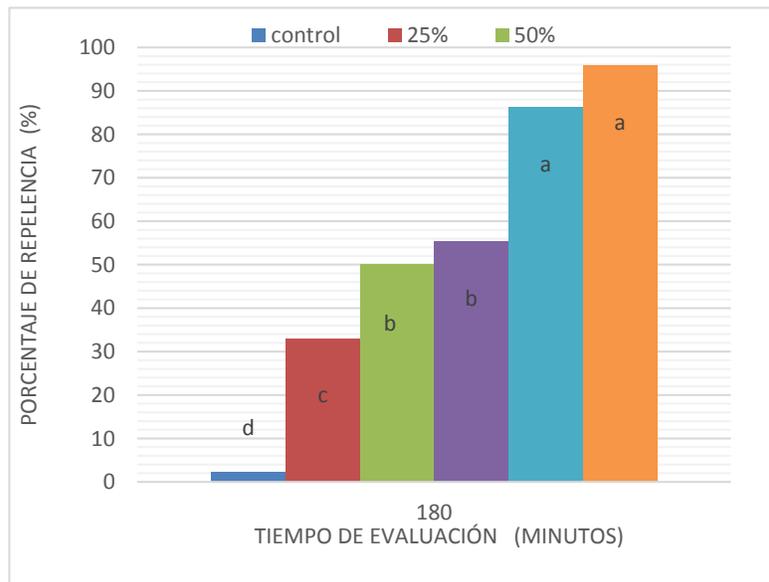


Fig 2. Tiempo de evaluación del porcentaje de repelencia de las concentraciones del aceite de *Ricinus communis* contra *Aedes aegypti* cepa Rockefeller a los 180 minutos (a, b, c, d= representatividad: letras iguales, p<0,05).

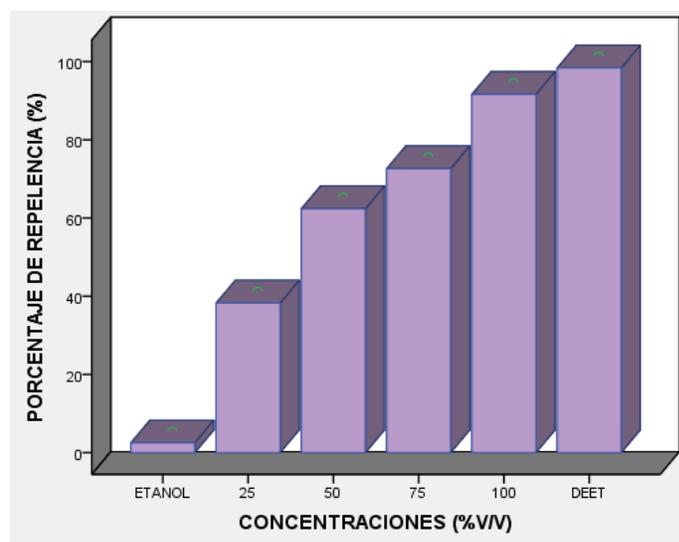


Fig.3. Relación entre el Porcentaje de repelencia contra *Aedes aegypti* cepa Rockefeller y las concentraciones del aceite de *Ricinus communis* ($p < 0,05$).

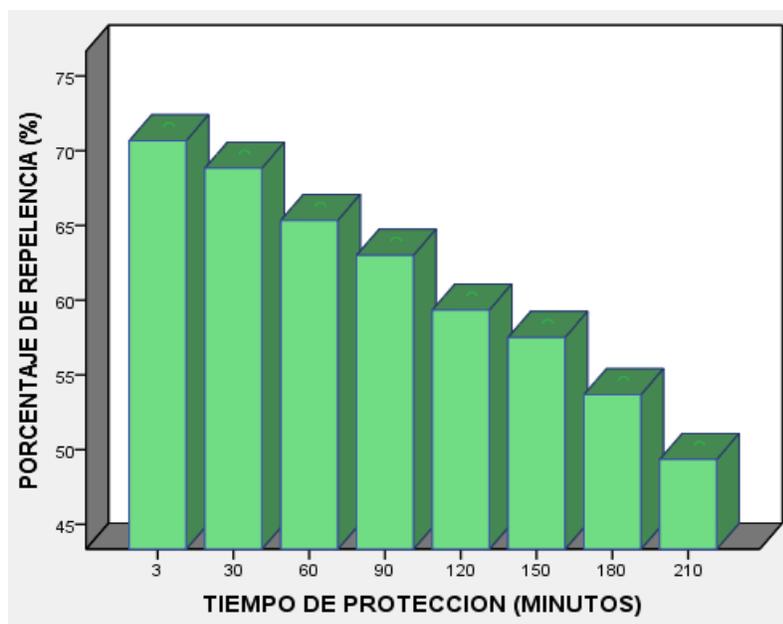


Fig 4. Relación entre el porcentaje de repelencia contra *Aedes aegypti* cepa Rockefeller y el tiempo de protección utilizado para la evaluación de las concentraciones del aceite de *Ricinus communis* ($p < 0,05$).

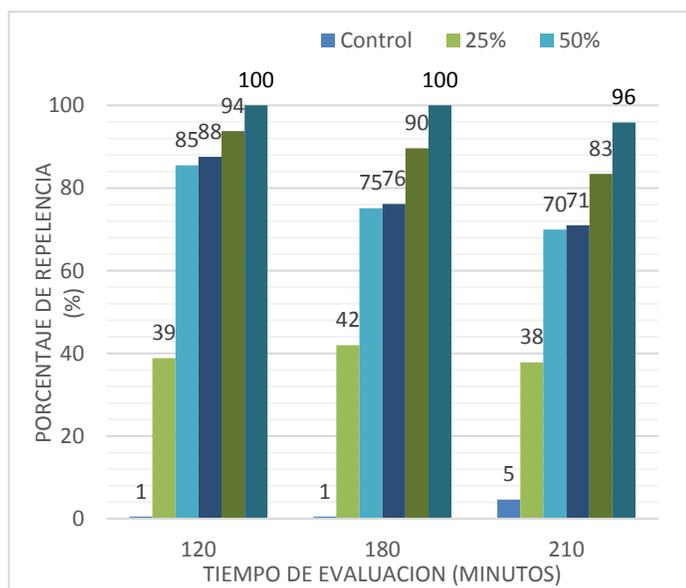


Fig. 5. Porcentaje de Repelencia que brindaron las diferentes concentraciones de aceite de *Ricinus communis* en tres tiempos de protección contra la *Aedes aegypti* población natural La Esperanza (p<0,05).

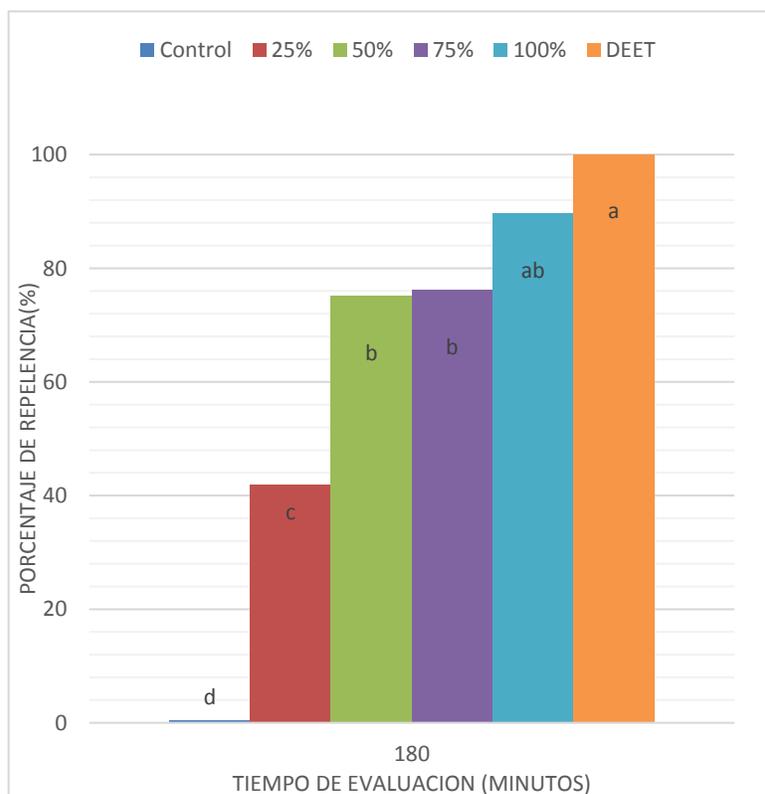


Fig. 6. Tiempo de evaluación del porcentaje de repelencia de las concentraciones del aceite de *Ricinus communis* contra *Aedes aegypti* población natural La Esperanza a los 180 minutos (a, b, c, d= representatividad: letras iguales, p<0,05).

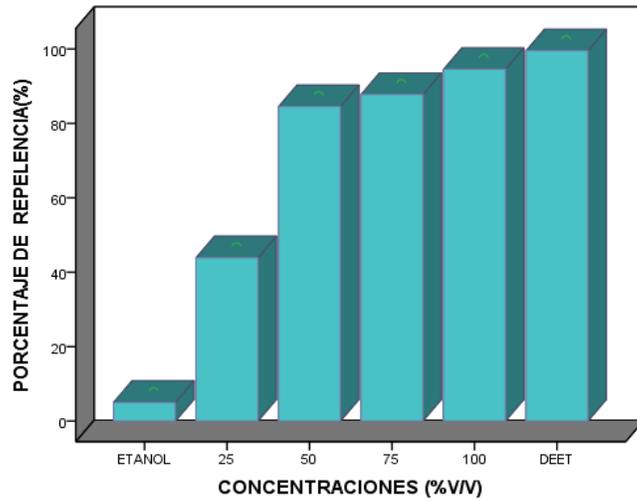


Fig.7. Relación entre el Porcentaje de repelencia contra *Aedes aegypti* población natural La Esperanza y las concentraciones del aceite de *Ricinus communis* ($p < 0,05$).

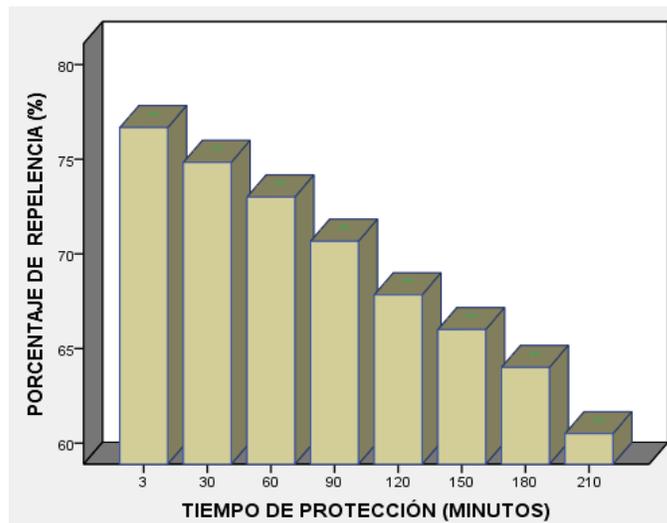


Fig 8. Relación entre el porcentaje de repelencia contra *Aedes aegypti* población natural La Esperanza y el tiempo de protección utilizado para la evaluación de las concentraciones del aceite de *Ricinus communis* ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

La mayor actividad repelente del aceite del endospermo de *R. communis* obtenido en este trabajo contra las picaduras de *Ae. aegypti* se obtuvo para población natural La Esperanza con un tiempo de protección mayor e igual a los 180 minutos para la concentración del 50, 75 y 100% (Fig 5), adicional a esto la concentración del 100% obtuvo valores similares al repelente sintético DEET ($p > 0.05$), no encontrándose diferencia estadística significativa entre ellos. Estos resultados son similares a los reportados por Sai et al²⁶, mostraron que *R. communis* tiene actividad repelente para un tiempo de protección de 4 horas contra mosquitos. Según lo propuesto por Nieves et al²⁵, para seleccionar una concentración que sea considerada como repelente, es necesario un tiempo de protección mayor o igual a los 180 minutos. Sin embargo, existe una leve tendencia a la disminución de la actividad repelente con el aumento del tiempo de exposición, este hecho puede ser atribuido a la alta volatilidad de los metabolitos presentes en los aceites.

Los resultados obtenidos en diversos estudios de la actividad insecticida de diferentes partes de la planta de *R. communis* están respaldados por diversas publicaciones^{15,27}, como el obtenido a partir de hojas y evaluó su actividad insecticida en *Plodia interpunctella* a tres concentraciones de las cuales la concentración del 15% logro la mortalidad de todas las larvas y actuó en un tiempo adecuado cuando la población de la plaga fue moderada. Ramos et al⁴⁷ determinó la actividad insecticida e insectistática contra *Spodoptera frugiperda*, con mejor tratamiento para el extractos acuosos de semilla seguido por el de hoja a nivel de la concentración de viabilidad larval cincuenta (CVL50) con 7.40×10^3 mg/mL⁻¹ y 2.55×10^3 mg/mL⁻¹ respectivamente.

Según Upsani et al.²⁷ el efecto insecticida del extracto de *R. communis* no se atribuye únicamente a un compuesto activo si no a una mezcla de compuestos y a la proporción en que estos se encuentran en el extracto, o también está directamente relacionado con el origen del material vegetal o variedad utilizada así como las condiciones climáticas y edáficas bajo las cuales se desarrollan las plantas.

Estudios realizados para determinar la actividad repelente de *R. communis* han sido reportados contra *Apion* sp “picudo del ejote”, *Conotrachelus* sp “picudo de la guayaba”, utilizando macerado acuoso de toda la planta al 10% y un producto comercial VIORAM (aceite de higerilla); asimismo, se obtuvo repelencia contra *Acromyrmex lundii* “hormiga negra común” a partir de extractos acetónicos y acuosos^{13,14,15}. Sus propiedades repelente contra insectos también han sido reportados cuando se evaluaron la repelencia de extractos hidroetanolicos de las hojas y semillas de *R. communis* contra *Scyphophorus acupunctatus* obteniendo mayor repelencia en las hojas^{26,27}.

Se han identificado moléculas repelentes en la planta de *R. communis* como flavonoides: quercetina, quercitrina y rutina en extracto hidroetanólico de las hojas; a su vez la quercetina aislado de extractos acuosos de hojas tiene efecto insecticida, ovicida y disuasor de la ovoposición frente a *Callosobruchus chinensis* L. “gorgojo chino del frijol” reportado por Upasani et al.^{28,29,30}.

Según los resultados se obtuvo actividad repelente del aceite extraído del endospermo de *R. communis*, lo cual indica que presenta sustancias químicas que producen cierto rechazo frente a los mosquito de *Ae. aegypti*, esto se debería a la presencia de moléculas como el ácido linoleico, oleico contenidos en el aceite^{13,15,16} y se han indicado en la muerte y repelencia de cucarachas; asimismo las lectinas que se han detectado principalmente en los cotiledones y endospermo de *R. communis* constituyendo entre el 2 y 10% del total de sus proteínas según Bencomo y Álvarez et al.²⁸; todos estos moléculas son capaces de irritar el sentido del olfato y perder la orientación hacia su huésped, lo cual indica que esto estaría sucediendo con los mosquitos de *Ae. aegypti* sin embargo son necesarios futuros estudios para identificar su papel y los diversos mecanismos fisiológicos con el insecto involucrados en la atracción hacia el hospedador^{12,13}.

Las lectinas son un grupo heterogéneo de proteínas agrupadas por su habilidad de reconocer y unirse a carbohidratos con una alta especificidad; se ha reportada su acción insecticida frente a la mosca domestica; así como capaz de evitar el desarrollo de plagas en diferentes plantaciones^{28,29,30}.

La repelencia producida por el DEET es debido al bloqueo de receptores del ácido láctico lo que produce la interferencia del vuelo de los mosquitos lo que resulta en la pérdida del hospedero. El ácido láctico está presente en el olor y sudor de animales de sangre caliente, que es atractivo para las hembra de *Ae. aegypti*; en estudio de comportamiento del ácido láctico este es esencial para las picaduras de este mosquito, pero por si solo es ligeramente atractivo para este, lo que indica un sinergismo con otros componentes del olor humano³⁰.

El mecanismo de acción de los repelentes botánicos no se conoce con exactitud, pero podría estar actuando por una acción mixta de un efecto desagradable sobre las terminaciones sensitivas de los insectos y por un bloqueo de la percepción química que utilizan para orientarse, Dickens et al.² mostraron que *Citronela* interactúa con dos vías moleculares distintas para mediar la repelencia: el co-receptor olfativo y el canal TRPA1 en *Anopheles gambiae* y *Drosophila melanogaster*. El mecanismo de acción del Icaridín derivado de la pimienta se basa en interferencia en los receptores específicos de los insectos⁵⁷.

La actividad repelente sobre *Ae. aegypti* cepa Rockefeller mostró una protección de repelencia del 86% a los 180 minutos, porcentaje menor al proporcionado por la población natural La Esperanza, esto podría deberse a que la cepa Rockefeller ha sido conservada en ambiente donde puede haber estado en contacto con sustancias químicas lo cual podría haber influido en algún tipo de resistencia o cambio genético que interfiera en la actividad repelente del aceite de *R. communis*. Múltiples son los factores que influyen en la actividad repelente, entre ellos la especie de insecto, resistencia, densidad y los mecanismos bioquímicos involucrados en la atracción hacia el hospedador; además, de los factores propios del aceite y del ambiente^{25,26}.

El mayor porcentajes de repelencia por la cepa Rockefeller fue obtenido por la concentración del 100% porcentaje similares proporcionado por repelente sintético DEET, no mostrando diferencia significativa entre ellos ($p > 0.05$), sin embargo mostraron diferencias significativas con las demás concentraciones.

Para el proceso de extracción del aceite del endospermo de *R. communis* se utilizó el Método Soxhlet el disolvente adecuado para este proceso fue el hexano, consideración hecha no solamente por la calidad del producto obtenido, sino también por sus características físicas que presenta el producto al final de la extracción. La temperatura optima utilizada fue entre 85-86°C, con un goteo constante de 70 – 80 gotas por minuto, cabe señalar que a temperaturas menores de 85°C, es insuficiente para realizar la condensación del disolvente y a temperatura de 86°C, el proceso se agiliza, sin embargo la calidad del producto se ve afectada debido a la oxidación que sufre por la elevada temperatura, corriendo además riesgo debido a las propiedades del solvente⁴⁴. Para las semillas de *R. communis* se obtuvo un 42% de aceites.

Se utilizó etanol como diluyente en la preparación de las diluciones para obtener las diferentes concentraciones ensayo, por su afinidad polar que presenta con las moléculas activas sobre insectos además de los practico para prepararse y ser aplicado, practica aprobada por las Normas Internacionales para el Manejo Ecológico y Orgánico de plagas en la Producción Vegetal y Procesamiento de Subproductos Agrícolas^{29,30,31}.

Según Parra et al⁴ los repelentes además de ser usados en su estado natural han sido muy comúnmente incorporados en lociones, cremas, pastas u otras preparaciones, ya sea para facilitar su aplicación o para garantizar un efecto más duradero. Característica que permitiría enfocar el uso del aceite de *R. communis* por sus propiedades cosméticas al contener en su composición el ácido ricinoleico, importante materia prima industrial para numerosos productos por sus propiedades cicatrizante, antiprurítico, antiinflamatoria, hidratantes, antioxidantes, antibacteriano y antifúngico.

Poco son los estudios del aceite de *R. communis* como repelente frente a las picaduras de *Ae aegypti*, y dada la importancia principal de enfermedades tropicales como dengue es fundamental el uso de repelentes de origen botánico por sus características de ser seguros para el uso humano y el medio ambiente así mismo de las propiedades que posee para ser usado en la industria cosmética. Para finalizar, es importante destacar el papel del *R. communis* como modelo para estudios de actividad repelente.

CONCLUSIONES

- El aceite del endospermo de *Ricinus communis* tiene actividad repelente en las concentraciones de 25, 50, 75 y 100%v/v.
- La mayor actividad repelente se tuvo para la población natural La Esperanza para la concentración del 100%v/v con un tiempo de protección de 180 minutos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Patel K, Gupta A, Oswal J. A review on: Mosquito repellent methods. IJPCBS. 2012; 2(3): 310-317.
2. Dickens C, Bohbot D. Mini review: Mode of action of mosquito repellents. Pestic Biochem Physiol. 2013.
3. Morales J, Castillo J, Luna I. Aceite esencial del fruto del noni *Morinda citrifolia*: Rubiaceae, como larvicida del mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Tecnociencia. 2010; 12(1): 53-60.
4. Parra G, García C, Cotes J. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vector del dengue en Colombia. CES Med. 2007;21(1):47-54.
5. Ayala-Sulca Y, Ibarra-Juarez L, Grieco P, Achee N, Mercado-Hernandez R, Fernandez-Salas I. Respuesta conductual de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) frente a adulticidas piretroides de uso frecuente en salud pública. Peru Med Exp. 2008;25(1):26-34.
6. Leyva M, Castex M, Montada D, Quintana F, Lezcano D, Marquetti M et al. Actividad repelente de formulaciones del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake (Myrtales: Myrtaceae) en mosquitos. Anales de Biología. 2012;34:47-56.
7. Okumu O, Emmanuel T, Mbeyela E, Gerry K, Moore J. Limitation of using synthetic human odours to test mosquito repellents. Malar J. 2009; 8:150.
8. Miot A, Btistella R, Batista K, Volpato E, Augusto T, Madeira G et al. Comparative study of the topical effectiveness of the Andiroba oil *Carapa guianensis* and DEET 50% as repellent for *Aedes* sp. Inst Med Trop S Paulo. 2004;46(5):253-256.
9. Kazembe C, Chaibva M. Mosquito Repellency of Whole Extracts and Volatile oils of *Ocimum americanum*, *Jatropha curcas* and *Citrus limón*. Bull Environ Pharmacol. 2012; 1(8): 65-71.
10. Jitendra J, Ashish G. *Ricinus communis* L. A Phytopharmacological review. Inst J Pharm Sci. 2012;4(4):25-29.
11. Goytia-Jimenez A, Gallegos-Goytia H, Nuñez-Colin A. Relación entre variables climáticas con la morfología y contenido de aceite de semillas de higuierilla *Ricinus communis* L. de Chiapas. Chapingo serie ciencias y del ambiente. 2011;17(1):41-48.
12. Manpreet R, Hitesh D, Bharat P, Shivani S. *Ricinus communis* L. A Review. Int J PharmTech. 2012; 4(4): 1707-1711.
13. Caffarini P, Carrizo P, Pelicano A, Roggero P, Pacheco J. Efecto de extractos acetónicos y acuosos de *Ricinus communis* ricino, *Melia azedarach* paraíso y *Trichillia glauca* trichillia, sobre la hormiga negra común *Acromyrmex lundii*. IDESIA. 2008;26(1):59-64.
14. Collavino M, Pelicano A, Giménez R. Actividad insecticida de *Ricinus communis* L. sobre *Plodia interpunctella* Hbn Lepidoptera: Phycitinae. FCA UNCuyo. 2006;38(1):3-18.
15. Satti A, Eltayeb E, Mahmoud K. Preliminary studies on phytochemical Constituents and mosquito larvicidal activities of *Ricinus communis* L. IJBPAS. 2013; 2(3): 538-551.
16. Abdalla E, Khitma E, Faysal A. Larvicidal, adult emergence inhibition and oviposition deterrent effects of foliage extract from *Ricinus communis* L. against *Anopheles arabiensis* and *Culex quinquefasciatus* in Sudan. Tropical Biomedicine.2009; 26(2):130-139.
17. Shyamapada M. Exploration of larvicidal and adult emergence inhibition activities of *Ricinus communis* seed extract against three potential mosquito vectors in Kolkata, India. Asian Pac J of Trop Med. 2010;3(8):605-609.
18. Misra G, Pavlostathis S. Biodegradation kinetics of monoterpenes in liquid and in soil-slurry system. Microbiol Biotechnol. 1997; 47: 572-577.
19. Ramírez N, Mora D, Ávila L, Rojas B, Usubillaga A, Sesgnini S, Carmona J. Composición química y actividad larvicida del aceite esencial de *Annona cherimola* Mill. de los Andes venezolanos contra el mosquito *Aedes aegypti* L. Fac Farm. 2011;53(2):2-6.

20. Bobadilla M, Zavala F, Sisniegas M, Zavaleta G, Mostacero J, Taramona L. Evaluación larvica de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus «guanábana» sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae). Rev Perú Biol. 2005; 12(1): 145-152.
21. Yang Y, Lee H, Lee K, Ahn J. Repellency of aromatic medicinal plant extracts and a steam distillate to *Aedes aegypti*. J Am Mosq Control Assoc. 2004; 20 (2): 146-149.
22. Lucía A, Gonzalez P, Seccacini E, Licastro S, Zerba E, Masuh H. Larvicidal Effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti*. J Am Mosq Control Assoc. 2007; 23(3): 299-303.
23. Salam E, Vahid D, Faried M, Abdel H, Abdel M. Effects of sub-lethal concentrations of synthetic insecticides and *Callitris glaucophylla* extracts on the development of *Aedes aegypti*. J Vector Ecol. 2005; 30(2).
24. Lee S. Mosquito larvicidal activity of aromatic medicinal plant oils against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens*. J Am Mosq Control Assoc. 2006; 22(2): 292-295.
25. Nieves E, Fernández J, Lias J, Rondón M, Briceño B. Actividad repelente de aceites esenciales contra las picaduras de *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). Int J Biol Trop. 2010; 58 (4): 1549-1560.
26. Sai B, Saravanan T, Ragavi M, Kviya G, Anushree A, Arul D et al. Screening of Local Plants for Their Repellent Activity against Mosquitoes (Diptera: Culicidae). J Mosquito Res. 2013; 3(14): 97-104.
27. Upasani M, Kotkar M, Mendki S y Maheshwari L. Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L. foliage flavonoids Pest Man Sci. 2003;59: 1349-1354.
28. Álvarez D, De la Fuente L, Villarrubia O, Mendéz De San Pedro C, Ortiz E. Actividad biológica de *Ricinus communis* sobre mosca doméstica *Musca domestica*. Med Trop. 1996; 48(3):1561-3054.
29. Rajkumar S, Jebanesan A. Repellency of volatile oils from *Moschosma polystachyum* and *Solunum xanthocarpum* against filarial vector *Culex quinquefasciatus* Say. Trop Biomed. 2005; 22: 139-142.
30. Geier M, Sass H, Boeckh J. A search for components in human body odour that attract females of *Aedes aegypti* In: Olfaction in Mosquito-Host Interactions. Ciba Foundation Symposium.1996:132–148.
31. Ferreira M y Moore S. Plant-based insect Repellents: a Review of their efficacy, development and testing. Malar J. 2011; 10(1): 11.



Especies vegetales utilizadas por pobladores de Berlín, Bagua Grande (Amazonas, Perú) 2011-2012

Plant species used by residents of Berlin, Bagua Grande (Amazonas, Peru) 2011-2012

Malena Grados Vásquez¹ y Freddy Peláez Peláez²

¹Tesista Escuela AP. De Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú.

²Departamento de Ciencias Biológicas. UNT.

RESUMEN

El registro de plantas y sus utilidades en la cultura popular tradicional es de suma importancia en países con una gran diversidad y tradicionalidad, como el Perú. Se documentó la importancia de las especies vegetales utilizadas por los pobladores de Berlín, Distrito de Bagua Grande, Provincia de Utcubamba, Departamento de Amazonas, desde noviembre del 2011 a mayo del 2012. Se realizaron excursiones y convivencia con los pobladores para obtener datos etnobotánicos en base a encuestas y coleccionar ejemplares de interés. El trabajo de gabinete se realizó en el Herbario de la Universidad Nacional de Trujillo (HUT), además, se realizaron análisis cuantitativos del Índice de Valor de Uso (IVU) y Sumatoria de Usos. Se determinaron especies de las familias: Asteraceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Rosaceae, Piperaceae, Solanaceae, Rubiaceae, Myrtaceae, Lamiaceae, Scrophulariaceae, de las cuales la primera fue la mejor representada seguida por Solanaceae y Rosaceae. Las especies registradas fueron clasificadas en 13 categorías de uso, la que presentó mayor número de especies fue la categoría de plantas medicinales con 60 especies del total registrado, seguida por plantas alimenticias con 29 y 11 de uso para la construcción.

Palabras clave: etnobotánica, plantas útiles, Berlín (Amazonas, Perú).

ABSTRACT

The registration of plants and utilities in the traditional folk culture is very important in countries with a high diversity and traditionalism, like Peru. The importance of plant species used by the residents of Berlin, Bagua Grande District, Province of Utcubamba, Amazonas Department, from November 2011 to May 2012. Excursions and coexistence with villagers for ethnobotanical data based on surveys and collect specimens of interest were conducted. The cabinet work was done in the Herbarium of the National University of Trujillo (HUT) further quantitative analysis Using Value Index (UVI) and Sum of uses were performed. Asteraceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Rosaceae, Piperaceae, Solanaceae, Rubiaceae, Myrtaceae, Lamiaceae, Scrophulariaceae, of which the first was the best represented, followed by Solanaceae and Rosaceae: species of the families were determined. The species recorded were classified into 13 categories of use, which presented the highest number of species was the category of medicinal plants with the total 60 species recorded, followed by food plants with 29 and 11 use for construction.

Keywords: ethnobotany, useful plants, Berlin (Amazonas-Perú).

INTRODUCCIÓN

Las características de los trabajos originales sobre las propiedades de las plantas medicinales en el Perú indican que de 57 especies, las más investigadas fueron *Lepidium* sp. “maca”, *Croton palanostigma* “sangre de grado”, *Calophyllum brasiliense* “lagarto caspi” y *Smallanthus sonchifolius* “yacón” y que los usos más comunes fueron los nutritivos, antineoplásicos, antioxidantes, hipoglicemiantes e hipotensor arteriales¹. Las plantas silvestres, por su lado, representan en muchos países en desarrollo una fuente importante de alimentos; por ello, muchas iniciativas coinciden en que el conocimiento de estas plantas es fundamental para intensificar los esfuerzos para conservar bosques o tierras forestales y hacerlos más productivos².

La etnobotánica y botánica económica en los Andes del Perú parecen estar mediados por la necesidad de encontrar alternativas a los problemas de salud local y a no perder el conocimiento tradicional de las plantas. Los departamentos donde se han llevado a cabo mayor número de investigaciones son: Cuzco (40), Ayacucho (12) y Arequipa (11) para la zona sur; Ancash (26) y Lima (11) para la zona centro y Lambayeque (19), Cajamarca (16) y La Libertad (13) para la zona norte³. En el sur, se identificó 507 especies de plantas reunidas en 319 géneros y 112 familias y se determinó que las plantas silvestres y cultivadas desempeñan papeles vitales en los rituales, el mito, el diseño y la ecología local⁴. En el Jardín Botánico Arboretum el Huayo (JBAH), a través de encuestas realizadas a la población involucrada en el área de influencia, se registró a 256 especies vegetales usadas en medicina tradicional, construcción y alimentación⁵; Asimismo, en el Bosque Seco del Área de Conservación Privada Chaparrí (Lambayeque) se registraron 122 taxa de plantas útiles, 103 géneros y 45 familias, de utilidad humana⁶.

Los bosques de la selva peruana cubren un 59 % del territorio peruano y constituyen el hábitat de las poblaciones nativas de la Amazonía⁷ y son mucho más ricos en diversidad de especies que cualquier otro bosque tropical del planeta. Muchas especies, aproximadamente 500 especies de plantas nativas, domésticas y silvestres, son utilizadas por los pobladores para diversos efectos como plantas alimenticias, medicinales, en la fabricación de artefactos domésticos, elaboración de artesanías, como colorantes, especias, etc.^{8,9}.

Los bosques montanos son designados como “Selva Alta”, se caracterizan por sus temperaturas que oscilan entre los 9 y 25°C, alta incidencia de neblinas y por lo tanto gran humedad según sea el tipo de formación vegetal; las lluvias en estos bosques son abundantes en casi todo el año, con un periodo considerado de “verano” o “secano” en los meses de agosto hasta octubre, donde las lluvias se suspenden por algunos días y alternan con lluvias moderadas; la vegetación progresivamente cambia sin tener una clara delimitación de una a otra zona de vida. Son de enorme importancia desde el punto de vista hidrológico forestal, de diversidad biológica y cultural, por que han sido y son usados por muchas tribus de la Amazonia; estos bosques albergan muchas especies de plantas de importancia económica de los tipos maderables, medicinales, ornamentales, alimenticios y tintóreos¹⁰.

El caserío de Berlín, Amazonas, se encuentra rodeado de bosques montanos dentro de los cuales está el actual Área de Conservación Privada “Bosque Berlín”, que hace referencia a su importancia desde el punto de vista de la gran diversidad biológica y aspectos culturales; es refugio de una gran diversidad faunística; la actividad económica predominante es la agropecuaria, además el caserío por su ubicación permite que la población haga uso principalmente de los bienes y servicios que este ofrece^{1,8}. Recientemente, se han iniciado estudios de la flora, registrándose más de 50 especies de pteridofitas, plantas de importancia económica, como *Podocarpus oleifolius* “saucesillo”, *Croton* sp. “sangre de grado”, *Cinchona* sp. “cascarilla”, *Physalis peruviana* “tomatito”¹¹.

Sin embargo, los estudios respecto de la biodiversidad son incompletos y no permiten tener la información adecuada para la protección de estos ambientes. La presente investigación estuvo dirigida a determinar las especies vegetales útiles presentes en Berlín (Amazonas) y su forma de uso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en el caserío de Berlín, con una altitud que va desde los 2000-2500 msnm, pertenece al Distrito de Bagua Grande, Provincia de Utcubamba, Departamento de Amazonas¹² (Fig. 1).

Su clima es templado en la parte intermedia y frígida en la parte alta, registrando una estación lluviosa que se inicia en los meses de octubre y noviembre, con declinaciones en el mes de diciembre y abril, presentándose luego una estación de verano en los meses de mayo a septiembre. La temperatura varía de 22°C a 12°C en la parte alta; pertenece a la ecoregión de las Yungas, conocida también como “Ceja de Selva”, “Selva Alta” o Bosque de “Neblina”, con vegetación básicamente arbórea, acompañada con una densa cubierta de plantas epífitas, como helechos, bromelias, aráceas y orquídeas¹².

Estudio de campo:

Se realizó encuestas sobre el uso de las plantas útiles a los pobladores de Berlín, el número de encuestados se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$n = n_0 / 1 + n_0 / N$$

Donde: N = tamaño de la población (60); n = tamaño de la muestra; n₀ = 384.16. Por lo tanto el número de encuestados fue a 52 pobladores.

Las plantas mencionadas por los pobladores fueron colectadas y se tomaron los datos *in situ* de hábitat, forma de uso, registros fotográficos, tomando un mínimo de dos muestras para cada especie, las que se preservó en una solución de alcohol al 10%.

En cuanto a la etnoclasificación de especies se ha tenido en cuenta la elaborada por Cárdenas et al.¹³, donde mencionan 13 categorías de uso.

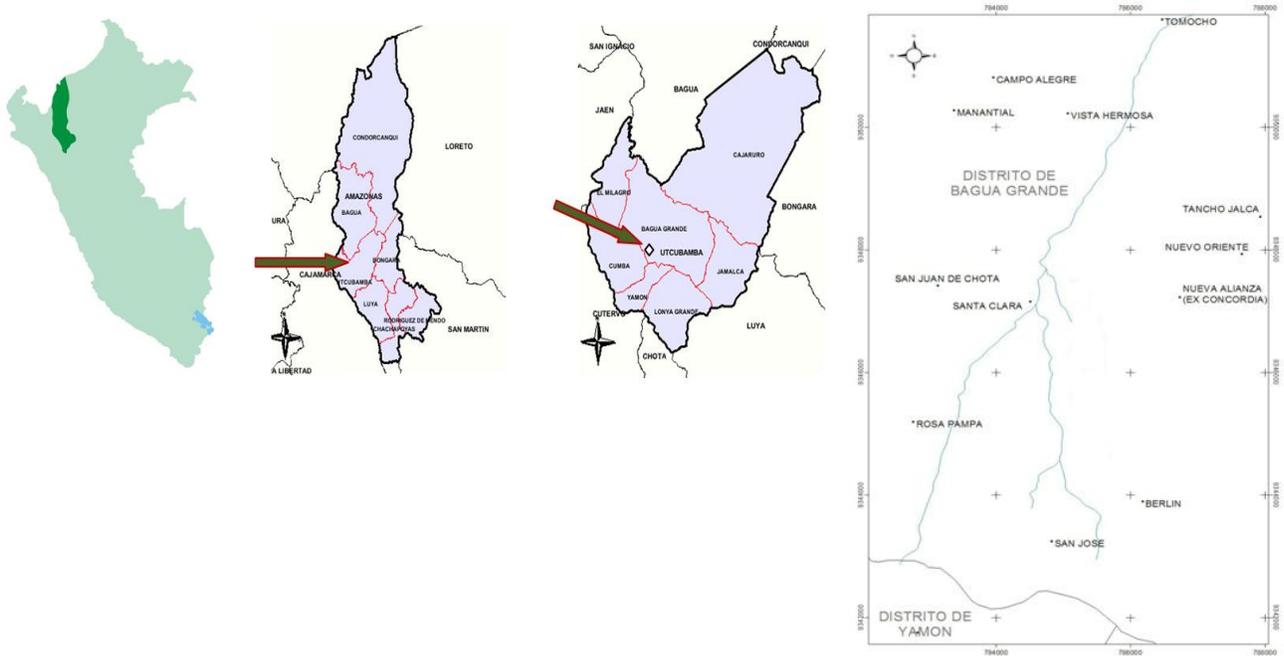


Fig. 1. Ubicación del poblado de Berlín (asterisco) en el distrito de Bagua Grande, provincia de Utcubamba, departamento de Amazonas, Perú, donde se evaluó y registró a la flora de utilidad para la población humana.

Estudio de gabinete:

Se desarrolló en el Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo. La determinación de las especies se realizó con ayuda de literatura especializada¹⁴ y por comparación con muestras presentes en el Herbario. Se analizaron los datos obtenidos y se elaboró el informe.

Sistematización de la información:

Con los datos obtenidos de las encuestas se realizó la sumatoria de usos; este enfoque plantea que cada uso mencionado para una especie determinada, contribuye al valor total de importancia de dicha especie¹⁵ y el Índice de Valor de Uso (IVU), que expresa la importancia o valor cultural de una especie determinada para todos los informantes a través de la fórmula¹⁶:

$$IVU_{is} = \frac{\sum U_{is}}{n_{is}}$$

Donde: U_{is} es el número de usos mencionados por el informante (i) para la especie (s), en cada entrevista; y n_{is} es el número de entrevistas con dicho informante para la especie.

Así el valor de uso de cada especie para cada informante es definido como la relación entre el número de usos mencionados en cada entrevista y el número de entrevistas realizadas para cada especie. Para estimar el índice de valor de uso general de cada especie para todos los informantes (IVU), será el valor promedio por informante para cada especie¹⁷.

RESULTADOS

Se reportan 38 familias con 77 especies vegetales utilizadas por los pobladores de Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas), siendo la familia Asteraceae la mayor representada con 13 especies (17%), seguida de Solanaceae y Rosaceae con 5 especies cada una (6 %), fueron clasificadas en 13 categorías de uso y la que presentó mayor número de especies fue la categoría de plantas medicinales con 60 especies del total registrado (Tabla 1, Fig. 2).

Las 60 especies de plantas de uso medicinal están agrupadas en 29 familias, donde la familia Asteraceae es la mejor representada (13 especies y *Artemisia absinthium* “ajenjo”, *Phyllanthus niruri* “chancapiedra” y *Pisidium guajaba* “huayaba” poseen un índice de valor de uso elevado en formas de cocimientos, infusiones y empleo en modo directo (Tabla 2).

Se registraron, asimismo, 29 especies de uso alimenticio agrupadas en 18 familias. Se destacan los altos valores de uso (IVU) en *Foeniculum vulgare* “hinojo”, *Colocasia esculenta* “pituca”; las formas de alimentación consumidas directamente son los tubérculos, frutas, especias, hojas en ensaladas, como té; entre otras (Tabla 3).

En la categoría de uso para la construcción se registraron 11 especies agrupadas en ocho familias, consideramos especies que son usadas en la edificación de viviendas, vigas, para techos, marcos de las ventanas y puertas (Tabla 4).

En la categoría de uso de plantas tóxicas se determinó especies que causan daño al ganado, provocándole afecciones muy fuertes y a veces la muerte: se registraron ocho especies agrupadas en cinco familias (Tabla 5). Por su parte, en la categoría de uso de plantas como combustible se registraron cinco especies en cinco familias: se utiliza los árboles, hojas secas y arbustos usados para leña, también se utilizan como incienzo (Tabla 6).

En la categoría de uso de plantas como forraje se registraron cuatro especies en cuatro familias, el ganado es alimentado con los tallos, hojas sobrantes de las cosechas de los principales cultivos y algunos pastos (Tabla 7). En la Tabla 8 se registraron las especies con propiedades abortivas. Estas especies en infusiones o cocimientos en altas concentraciones traen como consecuencia los abortos. Asimismo, se registraron plantas usadas como ornamentales. Las especies usadas con este fin son las que presentan estructuras peculiares o llamativas como las flores, en la mayoría de los casos las que resultan atractivas a simple vista. Se registraron 5 especies en 4 familias (Tabla 9).

En la categoría de plantas usadas como biocidas se registraron 5 especies en 4 familias. Utilizadas como insecticidas, plaguicidas (Tabla 10). En la Tabla 11 se registraron las plantas usadas con fines culturales. El caserío de Berlín es un lugar donde aún se conservan las tradiciones y costumbres. Se realizan las predicciones futuras, y varios rituales con diferente finalidad. Se registraron 4 especies en 4 familias.

En la categoría de plantas usadas como cerco se reportó a la especie *Alnus acuminata* “aliso”, se utiliza delimitando las chacras (Tabla 12). Asimismo, en la categoría de plantas usadas como colorantes se registraron 4 especies en 4 familias. Los tintes son obtenidos de raíces, hojas, flores y frutos para teñir la lana de ganado ovino y los tejidos (Tabla 13). Las plantas con usos específicos incluyen a cinco especies agrupadas en cuatro familias usadas para aromatizar el ambiente o como perfume (Tabla 14).

Tabla 1. Especies vegetales utilizadas por los pobladores de Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas), nombres comunes y usos.

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	USOS (*)
AMARANTHACEAE	<i>Iresine sp.</i>	“cachurro negro”	Ots
ANNONACEAE	<i>Annona cherimola</i>	“chirimoya”	Al;Med,Vet
APIACEAE	<i>Foeniculum vulgare</i>	“hinojo”	Al;Med;Tox;Per
	<i>Ciclospermun leptophyllum</i>	“culantrillo”	Al;Med
ARACEAE	<i>Colocasia esculenta</i>	“pituca”	Al;Med
ASTERACEAE	<i>Artemisia absinthium</i>	“ajenjo”	Med;Al,Abortivo,Tox
	<i>Bidens pilosa</i>	“cadillo”	Med,Tox,Maleza
	<i>Dahlia pinnata</i>	“dalia”	Orn,Med
	<i>Tagetes minuta</i>	“huacatay”	Al;Med,Bioc,Tox
	<i>Cichorium intybus</i>	“achicoria”	Al;Med
	<i>Baccharis trinervis</i>	“chilca”	Med
	<i>Spilanthes leiocarpa</i>	“nelia”	Med;Tox
	<i>Sonchus oleraceus</i>	“cerraja”	Med
	<i>Ambrosia peruviana</i>	“marco, altamisa”	Med;Bioc
	<i>Smallanthus sonchifolius</i>	“llacon”	Al,Med
	<i>Achyrocline alata</i>	“ishpingo”	Med
	<i>Tagetes erecta</i>	“achinga”	Med,Orn
	<i>Tagetes patula</i>	“rosa de muerto”	Cul;Med
VERBENACEAE	<i>Verbena littoralis</i>	“verbena”	Cul;Med,Al
BETULACEAE	<i>Alnus acuminata</i>	“aliso”	Const,For,Crc,Col,Med,Com
MALVACEAE	<i>Ochroma pyramidale</i>	“árbol de linaza”	Const
	<i>Sida spinosa</i>	“sida”	Med
BRASICACEAE	<i>Roripa nasturtium aquaticum</i>	“berro”	Al, Med
CAPRIFOLIACEAE	<i>Sambucus peruviana</i>	“sauco”	Med,Cercos,Bioc,Const,Al
CARYOPHYLLACEAE	<i>Dianthus caryophyllus</i>	“clavel”	Orn,Med
CHENOPODIACEAE	<i>Chenopodium ambrosiodes</i>	“paico”	Al;Med,Biocida
EUPHORBIACEAE	<i>Phyllanthus niruri</i>	“chancapiedra”	Med
	<i>Ricinus communis</i>	“higuerilla”	Med,Tox
	<i>Croton sp.</i>	“sangre de grado”	Med,Const
ERICACEAE	<i>Cavendishia bracteata</i>	“muñuño”	Med
	<i>Gaultheria procumbens</i>	“pirgay”	Al,Med,Perf
FABACEAE		“pajuro”	Al,Med,Const,Comb
	<i>Erythrina edulis</i>		
	<i>Trifolium repens</i>	“trebol blanco”	For
	<i>Trifolium amabile</i>	“trebol rojo”	For
	<i>Desmodium adscendes</i>	“pie de perro”	Med
HYDRANGEACEAE	<i>Hydrangea macrophylla</i>	“hortensia”	Orn
JUGLANDACEAE	<i>Juglans neotropica</i>	“nogal”	Med,Al,Const,Comb,Color
LAMIACEAE	<i>Mentha spicata</i>	“hierba buena”	Al,Med
	<i>Salvia sagittata</i>	“chochocon azul”	Al,Med
	<i>Minthostachys mollis</i>	“chanhua”	Al,Med,Biocida
	<i>Mentha aquatica</i>	“menta”	Al,Med

LINACEAE	<i>Linum usitatissimum</i>	“linaza”	Med,Al
LORANTHACEAE	<i>Oryctanthus alveolatus</i>	“suelda con suelda”	Med
LYTHRACEAE	<i>Cuphea ciliata</i>	“hierba del toro”	Med,Col
MONIMIACEAE	<i>Siparuna suaveolens</i>	“añashquero”	Cul;Med,Comb
MYRSINACEAE	<i>Myrsine oligophylla</i>	“toche colorado”	Const
	<i>Myrsine manglilla</i>	“chachacora”	Const
MYRTACEAE	<i>Myrcianthes fragans</i>	“lanche pequeño y grande”	Al
	<i>Pisidium guajaba</i>	“huayaba”	Al,Const,Med,Comb,Col
	<i>Myrcianthes myrsinoides</i>	“lanche dulce rumilanchi”	Al,Med
PIPERACEAE	<i>Piper aduncum</i>	“matico”	Med
	<i>Peperomia sp.1</i>	“chulco amarillo”	Med
	<i>Peperomia sp.2</i>	“congona”	Med
PLANTAGINACEAE	<i>Plantago major</i>	“llantén”	Med
POACEAE	<i>Paspalum racemosum</i>	“ñudillo”	For
PODOCARPACEAE	<i>Podocarpus oleifolius</i>	“romerillo saucecillo”	Constr
POLYGALACEAE	<i>Polygala paniculata</i>	“canchalagua”	Med
RANUNCULACEAE	<i>Ranunculus praemorsus</i>	“centella”	Med,Tox
ROSACEAE	<i>Duchesnea alchenilla indica</i>	“fresa silvestre”	Al
	<i>Rosa canina</i>	“rosa”	Orn,Med
	<i>Fragaria vesca</i>	“fresa común”	Al,Med
	<i>Eriobotrya japonica</i>	“níspero”	Al
	<i>Rubus roseus</i>	“zarza mora”	Al,Med
RUBIACEAE	<i>Richardia coldenioides</i>	“agachul”	For
	<i>Guettarda sp.</i>	“casarilla”	Const
	<i>Psychotria sp.</i>	“maciso”	Cult,Med,Tox
	<i>Cinchona sp.</i>	“árbol de la quina”	Med,Const
SCROPHULARIACEAE	<i>Castilleja arvensis</i>	“sangre de toro”	Med
	<i>Calceolaria sp.</i>	“boca de sapo”	Med
SOLANACEAE	<i>Physalis peruviana</i>	“tomatillo silvestre”	Al,Med
	<i>Solanum melongena</i>	“berenjena”	Med,Al
	<i>Cestrum auriculatum</i>	“hierba santa blanca”	Med
	<i>Solanum americanum</i>	“cuchay”	Med
	<i>Nicotiana tabacum</i>	“tabaco”	Med,Bioc,Abor
STYRACACEAE	<i>Styrax sp.</i>	“palo blanco”	Comb,Cult
THEACEAE	<i>Ternstroemia sp.</i>	“chachacoma”	Comb
VISCACEAE	<i>Phoradendrom punctatum</i>	“suelda con suelda amarillo”	Med

*: Ab : abortivo ; Al : alimenticio; Bioc: biocida; Crc: cerco ;Col :colorante ;Comb :combustible ;Const :construccion ;Cul: cultural; Forr :forraje ;Med :medicinal; Orn: ornamental; Tox :tóxico; Ots.: otros.

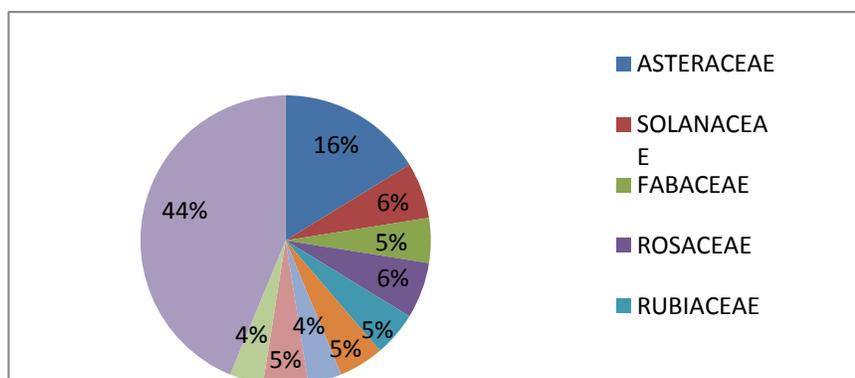


Fig. 2. Representatividad de familias de plantas útiles en el caserío de Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas), de acuerdo al porcentaje de especies.

Tabla 2. Plantas medicinales, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	∑ USOS	IVU
ANNONACEAE	<i>Annona cherimola</i>	“chirimoya”	3	0.0576
APIACEAE	<i>Foeniculum vulgare</i>	“hinojo”	5	0.0961
	<i>Ciclospermun leptophyllum</i>	“culantrillo”	6	0.1153
ARACEAE	<i>Colocasia esculenta</i>	“pituca”	2	0.0384
ASTERACEAE	<i>Artemisia absinthium</i>	“ajenjo ”	11	0.2115
	<i>Bidens pilosa</i>	“cadillo ”	5	0.0961
	<i>Dahlia pinnata</i>	“dalia”	6	0.1153
	<i>Tagetes minuta</i>	“huacatay”	2	0.0384
	<i>Cichorium intybus</i>	“achicoria”	5	0.0961
	<i>Baccharis trinervis</i>	“chilca”	5	0.0961
	<i>Spilanthes leiocarpa</i>	“nelia ”	1	0.0192
	<i>Sonchus oleraceus</i>	“cerraja”	5	0.0961
	<i>Ambrosia peruviana</i>	“marco, altamisa”	1	0.0192
	<i>Smallanthus sonchifolius</i>	“llacon ”	1	0.0192
	<i>Achyrocline alata</i>	“ishpingo”	1	0.0192
	<i>Tagetes erecta</i>	“achinga”	2	0.0384
	<i>Tagetes patula</i>	“rosa de muerto”	3	0.0576
	VERBENACEAE	<i>Verbena littoralis</i>	“verbena”	1
BETULACEAE	<i>Alnus acuminata</i>	“aliso”	4	0.0769
BRASICACEAE	<i>Roripa nasturtium aquaticum</i>	“berro”	7	0.1346
CAPRIFOLIACEAE	<i>Sambucus peruviana</i>	“sauco”	4	0.0769
CARYOPHYLLACEAE	<i>Dianthus caryophyllus</i>	“clavel”	4	0.0769
CHENOPODIACEAE	<i>Chenopodium ambrosiodes</i>	“paico”	4	0.0769
EUPHORBIACEAE	<i>Phyllanthus niruri L .</i>	“chancapiedra”	8	0.1538
	<i>Ricinus communis</i>	“higuerilla”	3	0.0576
	<i>Croton palanostigma</i>	“sangre de grado”	5	0.0961
ERICACEAE	<i>Cavendishia bracteata</i>	“muñuño”	1	0.0192
	<i>Gaultheria procumbens</i>	“pirgay”	2	0.0384
FABACEAE	<i>Erythrina edulis</i>	“pajuro”	2	0.0384
	<i>Desmodium adcondes</i>	“pie de perro”	3	0.0576
JUGLANDACEAE	<i>Juglans neotropica</i>	“nogal”	3	0.0576
LAMIACEAE	<i>Mentha spicata</i>	“hierba buena”	2	0.0384
	<i>Salvia sagittata</i>	“chochocon azul”	3	0.0576
	<i>Mintostachys mollis</i>	“chanhua”	2	0.0384
	<i>Mentha aquatica</i>	“menta”	1	0.0192
LINACEAE	<i>Linum usitatissimum</i>	“linaza”	5	0.0961
LORANTHACEAE	<i>Oryctanthus alveolatus</i>	“suelda con suelda”	3	0.0576

LYTHRACEAE	<i>Cuphea ciliata</i>	“hierba del toro”	1	0.0192
MALVACEAE	<i>Sida spinosa</i>	“sida”	1	0.0192
MYRTACEAE	<i>Pisidium guajaba</i>	“huayaba”	8	0.1538
	<i>Myrcianthes myrsinoides</i>	“lanche dulce rumilanchi”	2	0.0384
PIPERACEAE	<i>Piper aduncum</i>	“matico”	6	0.1153
	<i>Peperomia sp.</i>	“chulco amarillo”	1	0.0192
	<i>Peperomia sp.</i>	“congoná”	1	0.0192
PLANTAGINACEAE	<i>Plantago major</i>	“llantén”	5	0.0961
POLYGALACEAE	<i>Polygala paniculata</i>	“canchalagua”	1	0.0192
RANUNCULACEAE	<i>Ranunculus praemorsus</i>	“centella”	1	0.0192
ROSACEAE	<i>Rosa canina</i>	“rosa”	4	0.0769
	<i>Fragaria vesca</i>	“fresa común”	3	0.0576
	<i>Rubus roseus</i>	“zarza mora”	1	0.0192
RUBIACEAE	<i>Psychotria sp.</i>	“maciso”	1	0.0192
	<i>Cinchona pubescens</i>	“árbol de la quina”	6	0.1153
SCROPHULARIACEAE	<i>Castilleja arvensis</i>	“sangre de toro”	3	0.0576
	<i>Calceolaria</i>	“boca de sapo”	1	0.0192
SOLANACEAE	<i>Physalis peruviana</i>	“tomatillo silvestre”	3	0.0576
	<i>Solanum melongena</i>	“berenjena”	4	0.0769
	<i>Cestrum auriculatum</i>	“hierba santa blanca”	4	0.0769
	<i>Solanum americanum</i>	“cuchay”	3	0.0576
	<i>Nicotiana tabacum</i>	“tabaco”	3	0.0576
VISCACEAE	<i>Phoradendrom punctatum</i>	“sueda con sueda amarillo”	1	0.0192

Tabla 3. Plantas Alimenticias, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	Σ USOS	IVU
ANNONACEAE	<i>Annona cherimola</i>	“chirimoya”	1	0.0192
APIACEAE	<i>Foeniculum vulgare</i>	“hinojo”	3	0.0576
	<i>Cyclosporum leptophyllum</i>	“culantrillo”	1	0.0192
ARACEAE	<i>Colocasia esculenta</i>	“pituca”	3	0.0576
		“ajenjo”		
ASTERACEAE	<i>Artemisia absinthium</i>		2	0.0384
	<i>Tagetes minuta</i>	“huacatay”	1	0.0192
	<i>Cichorium intybus</i>	“achicoria”	1	0.0192
	<i>Smallanthus sonchifolius</i>	“llacón”	1	0.0192
VERBENACEAE	<i>Verbena littoralis</i>	“verbena”	1	0.0192
BRASICACEAE	<i>Roripasturtium aquaticum</i>	“berro”	1	0.0192
CAPRIFOLIACEAE	<i>Sambucus peruviana</i>	“sauco”	1	0.0192
CHENOPODIACEAE	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	“paico”	1	0.0192
ERICACEAE	<i>Gaultheria procumbens</i>	“pirgay”	1	0.0192
FABACEAE	<i>Erythrina edulis</i>	“pajuro”	2	0.0384
JUGLANDACEAE	<i>Juglans neotropica</i>	“nogal”	1	0.0192

LAMIACEAE	<i>Mentha spicata</i>	“hierba buena”	1	0.0192
	<i>Salvia sagittata</i>	“chochocon azul”	1	0.0192
	<i>Minthostachys mollis</i>	“chanhua”	2	0.0384
	<i>Mentha aquatica</i>	“menta”	1	0.0192
LINACEAE	<i>Linum usitatissimum</i>	“linaza”	1	0.0192
MYRTACEAE	<i>Myrcianthes fragans</i>	“lanche pequeño y grande”	2	0.0384
	<i>Pisidium guajaba</i>	“huayaba”	1	0.0192
	<i>Myrcianthes myrsinoides</i>	“lanche dulce rumilanchi”	1	0.0192
ROSACEAE	<i>Duchesnea indica</i>	“fresa silvestre”	1	0.0192
	<i>Fragaria vesca</i>	“fresa común”	1	0.0192
	<i>Eriobotrya japonica</i>	“níspero”	1	0.0192
	<i>Rubus roseus</i>	“zarza mora”	1	0.0192
SOLANACEA	<i>Physalis peruviana</i>	“tomatillo silvestre”	1	0.0192
	<i>Solanum melongena</i>	“berenjena”	1	0.0192

Tabla 4. Plantas de construcción, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	∑ USOS	IVU
BOMBACACEAE	<i>Ochroma pyramidale</i>	“árbol de linaza”	5	0.0961
CAPRIFOLIACEAE	<i>Sambucus peruviana</i>	“sauco”	1	0.0192
EUPHORBIACEAE	<i>Croton palanostigma</i>	“sangre de grado”	2	0.0384
FABACEAE	<i>Erythrina edulis</i>	“pajuro”	1	0.0192
JUGLANDACEAE	<i>Juglans neotropica</i>	“nogal”	4	0.0769
MYRSINACEAE	<i>Myrsine oligophylla</i>	“toche colorado”	1	0.0192
	<i>Myrsine manglilla</i>	“chachacora”	1	0.0192
MYRTACEAE	<i>Pisidium guajaba</i>	“huayaba”	1	0.0192
PODOCARPACEAE	<i>Podocarpus oleifolius</i>	“romerillo saucecillo”	1	0.0192
RUBIACEAE	<i>Guettarda</i> sp.	“cascarilla”	1	0.0192
	<i>Cinchona</i> sp.	“árbol de la quina”	1	0.0192

Tabla 5. Plantas con propiedades tóxicas, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	∑ USOS	IVU
APIACEAE	<i>Foeniculum vulgare</i>	“hinojo”	1	0.0192
ASTERACEA	<i>Artemisia absinthium</i>	“ajenjo”	1	0.0192
	<i>Bidens pilosa</i>	“cadillo”	1	0.0192
	<i>Tagetes minuta</i>	“huacatay”	1	0.0192
	<i>Spilanthes leiocarpa</i>	“nelia”	1	0.0192
EUPHORBIACEAE	<i>Ricinus communis</i>	“higuerilla”	1	0.0192
RANUNCULACEAE	<i>Ranunculus praemorsus</i>	“centella”	1	0.0192
RUBIACEAE	<i>Psychotria</i> sp.	“maciso”	1	0.0192

Tabla 6. Plantas usadas como combustible, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	Σ USOS	IVU
FABACEAE	<i>Erythrina edulis</i>	“pajuro”	1	0.0192
MONIMIACEAE	<i>Siparuna suaveolens</i>	“añashquero”	1	0.0192
MYRTACEAE	<i>Pisidium guajaba</i>	“huayaba”	1	0.0192
STYRACACEAE	<i>Styrax sp.</i>	“palo blanco”	2	0.0384
THEACEAE	<i>Ternstroemia sp.</i>	“chachacoma”	1	0.0192

Tabla 7. Plantas usadas como forraje, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	Σ USOS	IVU
FABACEAE	<i>Trifolium repens</i>	“trébol blanco”	1	0.0192
	<i>Trifolium amabile</i>	“trébol rojo”	1	0.0192
POACEAE	<i>Paspalum racemosum</i>	“ñudillo”	1	0.0192
RUBIACEAE	<i>Richardia coldenioides</i>	“agachul”	3	0.0576

Tabla 8. Plantas con propiedades abortivas, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	Σ USOS	IVU
ASTERACEAE	<i>Artemisia absinthium</i>	“ajenjo”	1	0.0192
SOLANACEAE	<i>Nicotiana tabacum</i>	“tabaco”	1	0.0192

Tabla 9. Plantas ornamentales, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	Σ USOS	IVU
ASTERACEAE	<i>Dahlia pinnata</i>	“dalia”	1	0.0192
	<i>Tagetes erecta</i>	“achinga”	1	0.0192
CARYOPHYLLACEAE	<i>Dianthus caryophyllus</i>	“clavel”	1	0.0192
HYDRANGEACEAE	<i>Hydrangea macrophylla</i>	“hortensia”	1	0.0192
ROSACEAE	<i>Rosa canina</i>	“rosa”	1	0.0192

Tabla 10. Plantas usadas como biocidas, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	Σ USOS	IVU
ASTERACEAE	<i>Tagetes minuta</i>	“huacatay”	2	0.0384
	<i>Ambrosia peruviana</i>	“marco, altamisa”	1	0.0192
CAPRIFOLIACEAE	<i>Sambucus peruviana</i>	“sauco”	1	0.0192
CHENOPODIACEAE	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	“paico”	1	0.0192
LAMIACEAE	<i>Minthostachys mollis</i>	“chanhua”	1	0.0192

Tabla 11. Plantas usadas con fines culturales, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	Σ USOS	IVU
ASTERACEAE	<i>Tagetes patula</i>	“rosa de muerto”	1	0.0192
VERBENACEAE	<i>Verbena littoralis</i>	“verbena”	1	0.0192
RUBIACEAE	<i>Psychotria sp.</i>	“maciso”	1	0.0192
STYRACACEAE	<i>Styrax sp.</i>	“palo blanco”	1	0.0192

Tabla 12. Plantas usadas como cerco, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	Σ USOS	IVU
BETULACEAE	<i>Alnus acuminata</i>	“aliso”	1	0.0192

Tabla 13. Plantas usadas como colorantes, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	Σ USOS	IVU
BETULACEAE	<i>Alnus acuminata</i>	“aliso”	2	0.0384
JUGLANDACEAE	<i>Juglans neotropica</i>	“nogal”	3	0.0576
LYTHRACEAE	<i>Cuphea ciliata</i>	“hierba del toro”	1	0.0192
MYRTACEAE	<i>Pisidium guajaba</i>	“huayaba”	1	0.0192

Tabla 14. Plantas con usos específicos, sumatoria de usos e índice de valor de uso en Berlín (Bagua Grande, Utcubamba, Amazonas).

FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN	Σ USOS	IVU
APIACEAE	<i>Foeniculum vulgare</i>	“hinojo”	1	0.0192
ASTERACEAE	<i>Dahlia pinnata</i>	“dalia”	1	0.0192
	<i>Achyrocline alata</i>	“ishpingo”	1	0.0192
ERICACEAE	<i>Gaultheria procumbens</i>	“pirgay”	1	0.0192
LAMIACEAE	<i>Mentha aquatica</i>	“menta”	1	0.0192

DISCUSIÓN

En América Latina, donde gran parte de la población no tiene acceso a un programa de salud primario y medicinas sintéticas, el uso y comercio de plantas medicinales se ha incrementado por razones económicas, sociales y culturales y el Perú posee una flora abundante en cuanto a recursos vegetales de uso medicinal^{18,19}.

En cuanto a la etnoclasificación de especies, se ha tenido en cuenta la elaborada por Cárdenas et al.¹³, donde mencionan 13 categorías de uso, de las cuales la mejor representada fue la medicinal con 60 especies del total registrado, seguida por plantas alimenticias con 29 y 11 de uso para la construcción, coincidiendo con las investigaciones efectuadas en: el Centro Poblado Llachón (Puno), donde se reportaron 122 especies agrupadas en 50 familias, de las cuales la categoría medicinal fue la mejor representada²⁰; la comunidad campesina Santa Catalina de Chongoyape (Lambayeque), donde se registraron 10 categorías de uso en etnobotánica, alimenticia con 38 especies útiles y medicinal con 37⁶; y en el centro poblado de Huaylingas, donde se registraron 86 especies, 46 de ellas de uso medicinal²⁰.

En Ucayali, Pérez²¹ realizó una encuesta a 367 personas, quienes mencionaron 55 especies y Pamo¹, en su informe sobre las propiedades de las plantas en revistas médicas peruanas señala que, de 57 plantas estudiadas, las más investigadas fueron *Lepidium* sp. “maca”, *Croton palanostigma* “sangre de grado”, *Calophyllum brasiliense* “lagarto caspi” y *Smallanthus sonchifolius* “yacón”, algunas de las cuales se hallan en la zona de estudio para ser aprovechadas por los pobladores. Bussmann et al.²², por su lado, documentaron las plantas medicinales populares y más raras vendidos en los mercados de Trujillo y Chiclayo, siendo las más vendidas: *Matricaria recutita* “manzanilla”, *Equisetum giganteum*, *Phyllanthus urinaria*, *Phyllanthus stipulatus*, *Phyllanthus niruri* “chanca piedra - interruptor de piedra”, *Eucalyptus globulus* “eucalipto”, *Piper aduncum*, *Uncaria tomentosa* “uña de gato”, *Rosmarinus officinalis* “romero”, *Peumus boldus*, *Bixa orellana* “achiote”. También estas están presentes en la zona estudiada pendientes de su comercialización y uso.

En la presente investigación, el hecho que representantes de la familia Asteraceae sea la mejor representada (13 spp.), podría deberse a que posee una gran diversidad de especies y géneros en todo el mundo, por su gran plasticidad genética, que logran adaptarse a la mayoría de los ambientes y a su fácil dispersión¹⁰, lo que coincide con lo registrado en otros estudios etnobotánicos realizados previamente^{17,20,23,24}.

Del total de especies medicinales registradas, *Artemisia absinthium* “ajenjo”, que pese a ser una especie introducida, ha obtenido el mayor IVU, esto puede deberse a lo mencionado por Pardo & Gómez³⁵, quienes proponen que el uso puede depender de la facilidad con la que se obtienen estos recursos, también se encontró: *Phyllanthus niruri* “chancapiedra”, *Pisidium guajaba* “huayaba”, teniendo un índice de valor de uso elevado. Las formas de uso más frecuente son los cocimientos, las infusiones y empleo en modo directo; para enfermedades como el hígado, anemia, los cálculos biliares, la diabetes, la gastritis, descensos vaginales, problemas estomacales, para detener las diarreas de los niños, contra las enfermedades respiratorias (la tos, los bronquios), para regular el periodo de la mujer, entre otros.

Se destacan los altos valores de uso (IVU) alimenticias en *Foeniculum vulgare* “hinojo” y *Colocasia esculenta* “pituca”; donde los frutos del hinojo sirven para aderesos de carnes y sopas, también se emplea para bebidas en licorerías y la pituca se consume los tuberculos grandes como la papa y las hojas como verdura. Resultados similares han sido propuestos previamente^{17,20,23}

El combustible es una de las más grandes necesidades de la vida moderna, indispensable en el hogar y en la industria como fuente de calor y energía. Para esto puede aprovecharse cualquier material que arda fácilmente, por lo que se usa una gran variedad de productos vegetales, dentro de los más importantes tenemos la madera que según Hill (1965), el 99% de su masa es combustible cuando está seca completamente, por tanto deja una pequeña cantidad de ceniza; asimismo, las maderas duras son las más estimadas como combustible. La especie *Styrax* sp. “palo blanco” ha obtenido el IVU más alto por su forma de uso más frecuente, las ramas y hojas secas de árboles y arbustos para leña o como incienzo. Se registraron además *Erythrina edulis* “pajuro”, *Siparuna suaveolens* “añashquero” *Pisidium guajaba* “huayaba”, *Ternstroemia* sp. “chachacoma”.

En lo referente a plantas usadas en construcción se registraron 11 especies agrupadas, consideramos especies que son usadas en la edificación de viviendas (vigas, para techos, marcos de las ventanas y puertas), entre ellas las de mayor IVU están *Ochroma pyramidale* “árbol de linaza”, *Juglans neotropica* “nogal”

En la categoría de plantas forrajeras tenemos 4 especies, *Trifolium repens* “trebol blanco”, *Trifolium amabile* “trebol rojo”, *Paspalum racemosum* “ñudillo”, y *Richardia coldenioides* “agachul” que presenta el IVU más alto; el uso como forraje de estas especies es parte de un aprovechamiento ancestral y están dentro de los usos directos más comunes. En el estudio realizado por Lerner et al.⁶ dentro de sus 10 categorías de uso, la de forraje es la que presenta mayor cantidad de especies.

Se registraron 8 especies tóxicas para el ganado, todas con un mismo IVU; de ellas *Ricinus communis* “higuerilla” en la ingesta de semillas provocan ardor en boca, garganta y estómago, sed, náusea, vómito, gastroenteritis con sangre, diarrea violenta, sudoración, dolor abdominal, vértigo, visión torpe, daños en hígado y riñón, somnolencia, debilidad, espasmos tetánicos, convulsiones, muerte; tal como ha sido descrito anteriormente²⁶.

Las especies biocidas son de mucha importancia para los pobladores de Berlín, utilizan algunas plantas para el tratamiento de plagas y enfermedades de sus cultivos (son plantas para curar plantas); se registraron 5 especies entre ellas *Tagetes minuta* “huacatay”, es la especie con el IVU más alto. Podría señalarse que este grupo es uno de los menos estudiados, pero dado el lugar caluroso con abundancia de mosquitos, requiere de estudios y promoción de uso.

El caserío de Berlín es un lugar donde aún se conservan las tradiciones y costumbres. Se registraron 4 especies todas con un mismo IVU, donde se incluyen plantas usadas en rituales realizados en fiestas patronales, limpias, brujería y demás tradiciones, donde las plantas juegan un papel muy importante. Cerro & cols. (2000) mencionan plantas usadas para el tratamiento de trastornos culturales como el “susto”, donde el espíritu de la persona abandona su cuerpo debido a una fuerte impresión de susto provocada, generalmente en los niños, por animales o personas, en este caso se hace referencia a especies como *Tagetes patula* “rosa de muerto” *Verbena littoralis* “verbena” *Psychotria* sp. “maciso” *Styrax* sp. “palo blanco”. Estas plantas son usadas en el centro poblado de Berlín en las limpias y contra los daños.

En la categoría de plantas usadas como cerco, se registró la especie *Alnus acuminata* “aliso”, se utiliza delimitando la chacras. En el estudio realizado por Schjellerup et al.¹⁰, registran 19 especies, sólo usadas como cerco vivo donde menciona que las plantas espinosas, urticantes; resinosas, con ganchos y demás sustancias irritantes son las usadas.

En la categoría de plantas usadas como colorantes se registraron 4 especies entre ellas el de mayor IVU fué *Juglans neotropica* “nogal”. Los tintes son obtenidos de raíces, hojas, flores y frutos para teñir la lana de ganado ovino y los tejidos. Tal como describe Cerro et al.²⁴ de las diferentes especies de plantas y árboles, existen algunos que poseen, propiedades tintóreas, es el caso del *Juglans neotropica* “nogal”, *Picramnia sellowii* subsp. *spruceana* “ayapira”, *Bocconia frutescens* “amaccari” y *Vismia macrophylla* “lacre rojo”, que la población utiliza para el teñido de algodón y el pintado de algunas pequeñas prendas de vestir.

Se registraron plantas con usos específicos todas con un mismo IVU, incluimos a 5 especies entre ellas: *Foeniculum vulgare* “hinojo”, *Dahlia pinnata* “dalia”, *Achyrocline alata* “ishpingo”, *Gaultheria procumbens* “pirgay”, *Mentha aquatica* “menta”, usadas para aromatizar el ambiente o como perfume. En la categoría de plantas con propiedades abortivas encontramos a las especies *Artemisia absinthium* “ajenjo” y *Nicotiana tabacum* “tabaco” con un mismo IVU; estas plantas en infusiones o cocimientos en altas concentraciones traen como consecuencia los abortos.

Por último, en la categoría de plantas ornamentales se reportaron 5 especies todas con un mismo IVU, que presentan estructuras peculiares o llamativas como las flores, en la mayoría de los casos las que resultan atractivas a simple vista. Dentro de ellas se encontraron *Dahlia pinnata* “dalia”, *Tagetes erecta* “achinga” *Dianthus caryophyllus*, “clavel”, *Hydrangea macrophylla* “hortensia”, *Rosa canina* “rosa”.

Los índices de valor de uso (IVU) y el valor de la sumatoria de usos de las especies, demuestran la preferencia de los pobladores hacia las plantas de uso medicinal, debido a que no se encuentra un fácil acceso a los centros disponibles de atención; es por ello que ellos tienen que recurrir a este tipo de medicina tradicional.

CONCLUSIONES

- Se reportaron 38 familias con 77 especies, donde las familias con cuatro o más especies son Asteracea, Fabaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Solanaceae.
- Se consideran 13 categorías de uso: Las medicinales con 60 especies; 29 especies como alimenticias; 5 especies usadas para aromatizar el ambiente o como perfume; 8 especies tóxicas para el ganado; 2 especies abortivas; 5 especies ornamentales; 5 especies como biocida; 4 especies como culturales; 1 especie para cerco; 4 especies se usan como colorantes; para construcción se utilizan 11 especies; 5 especies como combustible; y para forraje se usan 4 especies.
- Los mayores Índices de Valor de Uso (IVU) lo presentan: *Artemisia absinthium* “ajenjo” (0.2115) en plantas medicinales; *Foeniculum vulgare* “hinojo” (0.0576) *Colocasia esculenta* “pituca” (0.0576) en plantas alimenticias; *Ochroma pyramidale* “árbol de linaza” (0.0961) plantas usadas para la construcción; *Styrax sp.* “palo blanco” (0.0384) plantas usadas como combustible; *Richardia coldenioides* “agachul” (0.0576) plantas usadas como forraje; *Tagetes minuta* “huacatay” (0.0384) plantas usadas como biocidas, *Juglans neotropica* “nogal” (0.0576) plantas usadas como colorantes en el caserío Berlín.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pamo O. Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas en revistas médicas peruanas. Rev Perú Med Exp Salud Pública 2009; 26(3): 314-23.
2. Castillo M, Cáceres M. El bosque como fuente de alimento: Un estudio etnobotánico de plantas silvestres comestibles en tres comunidades de la Reserva Biológica Indio- Maíz, y tres comunidades de la Reserva de Biosfera Bosawas. Universidad Nacional Agraria. Facultad de Recursos Naturales y del Ambiente. Nicaragua. 2009.
3. La Torre M, Albán J. Botánica Económica de los Andes Centrales: Etnobotánica en los Andes del Perú. 2006. pp.239-245.
4. Franquemont C, Franquemont E, Davis W, Plowman T, et al. The Ethnobotany of Chinchero, an Andean Community in Southern Peru Botany .Fieldiana Botany 1990; 24: 1-26.
5. Valderrama H. Plantas de importancia económica y ecológica en el jardín botánico- Arboretum el Huayo, Iquitos, Perú. Folia amazónica 2003; 14 (1) - IIAP 159.
6. Lerner T, Ceroni A, González C. Etnobotánica de la comunidad campesina “Santa Catalina de Chongoyape” en el Bosque Seco del Área de Conservación Privada Chaparrí Lambayeque. Ecología Aplicada 2003; 2(1): 14-20.
7. Rutter R. Catálogo de plantas útiles de la Amazonia peruana. Comunidades y culturas peruanas. Ecología Aplicada 2008; 22: 1022-1514.
8. Mejía K. Diagnóstico de recursos vegetales de la amazonia peruana. Documento Técnico n° 16. IIAP, Iquitos-Perú 1995; pp.3-55
9. Barriga R. Plantas Útiles de la Amazonia Peruana: características, usos y posibilidades. CONCYTEC, Perú. 1994.
10. Schjellerup I, Kamp Sorensen M, Espinoza C, Quipuscua V, Peña V. Los Valles Olvidados. Pasado y Presente en la Utilización de Recursos en la Ceja de Selva, Perú The National Museum of Denmark. Ethnographic Monographs, N° 1, Trujillo-Perú. 2003.
11. Rimarachin L, Peláez F, Pollack L, Medina V, et al. Propuesta para crear el Área de Conservación Privada “Bosque de Berlín” Bagua Grande-Utcubamba-Amazonas-Perú. En: X Cong Nacional de Botánica. Trujillo, Perú. 2004. p.202.
12. Rimarachin L. Estructura Poblacional de los helechos arbóreos en el bosque Berlín-Bagua Grande, Amazonas-Perú. Tesis de Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2007.
13. Cárdenas D, Marín C, Suárez S. Utilidad del Valor de uso en Etnobotánica. Estudio en el Departamento de Putumayo (Colombia). Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas. 2005.
14. Mostacero J, Mejía, Gamarra O. Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. Volumen I. (CONCYTEC). Perú. 2002.

15. Phillips O, Gentry A. The useful plants of Tambopata, Peru: II. Additional hypothesis testing in quantitative ethnobotany. *Economic Botany* 1993; 47: 33-43.
16. Phillips O. Some quantitative methods for analyzing ethnobotanical knowledge. In: M. Alexiades (ed.), selected guidelines for ethnobotanical research: a field manual. The New York Botanical Garden, Nueva York. 1996; pp.171-197.
17. Arteta M. Etnobotánica de Plantas Vasculares en el Centro Poblado Llachón, Distrito Capachica, Departamento Puno. Tesis de Biólogo. Universidad Nacional San Agustín. Arequipa. Perú. 2008.
18. Palacios E. Economía y Plantas medicinales. *Boletín CSI. UNMSM. Consejo Superior de Investigaciones* 2004; 52: 28-31.
19. Kvist L, Oré I, Gonzales A, Llapapasca C. Estudio de plantas medicinales en la Amazonía Peruana: Una evaluación de ocho métodos etnobotánico. *Folia Amazónica* 2001; 12: 1-2.
20. Ceroni A. Datos etnobotánicos del poblado de Huaylingas. Cuenca la Gallega. Morropon, Piura, *Ecología Aplicada* 2002; 1(1): 65-70.
21. Pérez D. Etnobotánica medicinal y biocidas para malaria en la Región Ucayali. *Folia Amazónica* 2002; 13 (1-2) - IIAP 87.
22. Bussmann R, Sharon D, Vandebroek I, Revene Z. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. Health for sale: the medicinal plant markets in Trujillo and Chiclayo, Northern Perú* 2007; 3(37): 1-9.
23. Quiroga R. Estudio etnobotánico en el pueblo Weenhayek de la Provincia Gran Chaco de Tarija, Bolivia. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad del Chaco. Bolivia. 2007.
24. Cerro W; Quijandría G, Dueñas C, Nauray W, et al. Estudio Etnobotánico en las cuencas altas de los ríos Tambopata e Inambari. INRENA. Cooperazione Italiana. PRO Naturaleza: Perú. 2000.
25. Pardo M, Gómez E. Etnobotánica: aprovechamiento tradicional de plantas y patrimonio cultural. *Anales Jard. Bot. Madrid* 2003; 60(1): 171-182.
26. Avendaño S, Flores J. Registro de plantas tóxicas para ganado en el estado de Veracruz, México. *Vet. Méx* 2009; 30(1): 79-94.



Crecimiento de goldfish, *Carassius auratus*, y lechuga, *Lactuca sativa*, en sistema acuapónico en condiciones de invernadero.

Growth of Goldfish, *Carassius auratus*, and lettuce, *Lactuca sativa*, in an aquaponic system under greenhouse conditions.

Ana Rodríguez Aguilar¹ y Alina Zafra Trelles²

¹Tesista, Escuela AP de Pesquería. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo. Perú. ²Departamento de Pesquería. UNT

RESUMEN

Se evaluó el crecimiento de *Carassius auratus* "goldfish" y *Lactuca sativa* "lechuga" en sistema acuapónico grow bed en 178 días. Para el cultivo se utilizó una cubeta de 420 L, dos camas de 1m² con 20 cm de grava, dos bombas de 1200 L/h, un aireador de 4 L/min y dos sifones. Se empleó 70 ejemplares de *C. auratus*, alimentados tres veces al día con Truchina al 42%, con una tasa de alimentación del 5%; asimismo para los tres experimentos de *L. sativa* se emplearon densidades de 12, 15 y 18 lechugas/m² respectivamente. Quincenalmente se registraron datos de peso y longitud para los peces y de las lechugas. Se colectó información diaria de temperatura ambiente y del agua, semanalmente se midió el pH, nitritos, nitratos, amonio-amoniaco y dureza de carbonatos. Además la tasa de crecimiento absoluto y relativo (TCA y TCR) fue de 4,95 g y 6,54 cm en los goldfish y para las lechugas, los pesos en el primer experimento fue 62,09 y 63,34 g, el segundo experimento con 94,88 y 110,44 g y el tercer experimento fue 92,96 y 102,46 g. El crecimiento de los peces fue lento, esto posiblemente a la influencia de la temperatura ambiente y al pH; para *L. sativa*, el mayor crecimiento se obtuvo en la segunda cosecha. Sin embargo, con el análisis de varianza (ANAVA) no se encontró diferencias en el crecimiento en las camas de las lechugas.

Palabras clave: Crecimiento, *Carassius auratus*, *Lactuca sativa*, sistema acuapónico.

ABSTRACT

The growth of *Carassius auratus* "goldfish" and *Lactuca sativa* "lettuce" in grow bed aquaponic system was evaluated in 178 days. For the culture was used one tray of 420 L, two beds of 1m² with 20 cm of gravel, two bombs of 1200 L/h, one aerator of 4L/min and two siphons. Were employed 70 specimens of *C. auratus*, fed three times a day with Truchina to 42%, with a feed rate of 5%. Also for the three experiments of *L. sativa* was used, densities of 12, 15 and 18 lettuces/m² respectively. Every 15 days registered information of weight and length for the fishes and the lettuces. Was collected daily information of temperature ambient and of the water, weekly was measured pH, nitrite, nitrate, ammonia-ammonium and carbonate hardness. Also the growth rate absolute and relative (TCA and TCR). The growth was of 4.95 g and a length of 6.54 cm for goldfish and for the lettuces, the weights in the first experiment was 62.09 and 63.34 g, the second experiment with 94.88 and 110.44 g and the third experiment was 92.96 and 102.46 g. The growth of the fishes was slow, this possibly to the influence of the ambient temperature and the pH; for the plants, the major growth was in the second experiment. However, the analysis of variance (ANOVA) wasn't found difference in the growth in the beds of lettuces.

Keyword: Growth, *Carassius auratus*, *Lactuca sativa*, aquaponic system.

INTRODUCCIÓN

Definida como la combinación de un sistema recirculante de acuicultura con la técnica de hidroponía, la acuaponía se utiliza como una fuente de producción de alimentos que incluye la incorporación de peces, plantas y bacterias -organismos de ambientes distintos que nunca se han combinado en un ambiente natural- en un medio en donde pueden cohabitar a través de un proceso simbiótico: se favorece el interés productivo peces-plantas^{1,2}.

En la acuaponía las raíces de las plantas y la rizobacterias remueven nutrientes del agua a partir de desechos generados por las heces de los peces, algas y la descomposición de los alimentos: son contaminantes que podrían alcanzar niveles tóxicos para los peces, pero dentro de este sistema sirven como fertilizantes para el crecimiento de las plantas; a su vez, las camas hidropónicas funcionan como un biofiltro que mejora la calidad del agua en los tanques de los peces³.

En efecto, los desechos orgánicos son convertidos, a través de la acción bacteriana, en nitratos que sirven como fuente de alimento para plantas; éstas al asimilar los nitratos, limpian el agua para los peces actuando como filtro biológico; es decir, ya no aparecen amoníaco y nitritos, que son compuestos nitrogenados que en anaerobiosis pueden dar lugar a la formación de metano y sulfuro de hidrógeno, gases altamente tóxicos para los peces^{1,4,5}.

Los sistemas acuapónicos se diseñan como formatos denominados: growing power model, el raft system o cama flotante, NFT system o sistema de película fina y el grow bed; de ellos, este último presenta tanques de peces y una o más camas de plantas que utilizan como sustrato piedras, arcilla expandida, roca volcánica o perlitas y elimina el uso de biofiltros⁶. Estos sistemas poseen variaciones y niveles de tecnificación dependiendo de las necesidades para las cuales haya sido establecido; asimismo, hay gran variedad de plantas y organismos acuáticos que pueden ser cultivados en este sistema, dentro de los que destacan la tilapia, *Oreochromis* spp., como especie destinada a la alimentación y el pez ornamental goldfish, *Carassius* sp.⁷.

C. auratus es un pez altamente tolerante a diversas condiciones ambientales; por ejemplo: (i) pH entre 6,8 y 7,6, (ii) temperatura entre los 20 y 30°C y (iii) concentración de O₂ mayor a 4 ppm, de amoníaco menor a 2 mg/l, de nitrito de 1 mg/l y de nitrato, hasta de 100 mg/L; al mismo tiempo, esta especie tiene un gran valor comercial y los importes por exportación superan el millón de dólares^{8,9,10,11,12}.

Por su parte, la selección de los vegetales está directamente relacionada con la densidad de peces y la concentración de nutrientes de los efluentes acuícolas: más de 30 especies de vegetales, dentro de ellas la lechuga (*Lactuca sativa*) han sido cultivadas en sistemas integrados con bases experimentales¹³. La lechuga es una hortaliza de ciclo corto, (alrededor de 45 días luego de trasplante), con rangos de temperatura de 15 °C y 18° C, con temperatura máximas de 21°C - 24 °C y mínima de 7° C, ligeramente tolerante a la acidez, con un pH de 6,8 a 6,0, utiliza cantidades de nitrato considerables (100mg/l) ya que su interés comercial está enfocado en la producción de follaje¹⁴.

El sistema acuapónico grow bed es económico y versátil debido a que emplea materiales de fácil obtención y manipulación, con el fin de ser incorporados por familias que estén interesadas en implementar la acuicultura urbana. Prueba de ello son los trabajos realizados por Ramírez et al.¹⁵ (*C. auratus* - *L. sativa*), Ramírez¹⁶ y Riaño¹⁷ (*C. carpio* - *O. vulgare*) cuyas unidades experimentales fueron pequeñas (150 L).

Con estos antecedentes se diseñó una investigación que estuvo dirigida a evaluar el crecimiento de *C. auratus* “goldfish” y la ganancia de peso de *L. sativa* “lechuga” en un sistema acuapónico tipo grow bed en condiciones de invernadero con relación a los parámetros: fisicoquímicos, de calidad de agua y productivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se acondicionó el área de estudio para el cultivo acuapónico, en un invernadero urbano ubicado, geográficamente a los 8° 5'45,42" S y 79° 0'23,77"O en el distrito de Trujillo, la Libertad (Perú). El invernadero empleado fue de 1,93 x 2,45 x 2,15 m, el cual se construyó, usando malla sombreadora con 30% color blanco.

El sistema acuapónico

Estuvo constituido por cinco componentes: Cubeta de peces, camas de cultivo, bombas sumergibles, aireador y dos sifones. La cubeta de peces constó de un recipiente rectangular de 460 L de capacidad (173 x 60 y 45 cm), forrado con plástico negro de 5 mm de Ø, con un volumen de 420 L de agua declorada. Ésta cubeta contenía dos bombas sumergibles marca SOBO modelo WP-3500 de 1200 L/h de capacidad; éstas mediante un ramal de tubos de PVC de 5/8" Ø, condujeron el agua a las camas de cultivo. Se acondicionaron llaves de control de agua en las camas de cultivo para así graduar el volumen de agua necesario. A la cubeta también se le acondicionó un aireador de dos salidas marca ALEAS modelo AP-3500 de 4 L/min.

Las camas de cultivo estuvieron constituidas por cajones de madera de un área de 2,4 m², las que fueron forradas con plástico negro de 5 mm de Ø y llenadas con 20 cm de grava, previamente lavadas con agua dulce y dejando secar hasta su incorporación. Dentro estas camas, se incluyó un sifón de doble caño, el cual presentaba perlón para capturar sólidos. La tubería de PVC que se colocó en las camas de cultivo al igual que en el tanque de peces, no fueron pegadas, es decir todas las piezas colocadas en el sistemas estuvieron ensambladas únicamente a presión y con cinta teflón, esto con la finalidad de dar mantenimiento al sistema de riego, lo cual se realizó una vez cada mes.

Condiciones experimentales

Se trabajó con 70 ejemplares de *C. auratus* "goldfish" de dos meses de edad, previamente aclimatados; fueron alimentados con Truchina al 42%, tres veces al día (8:00 am, 12:00 pm y 4:00 pm). Se utilizó una tasa de alimentación del 5 % para *C. auratus*. Quincenalmente se realizaron muestreos de peso y longitud, siendo registrados en una ficha y usando un carcal para su captura. Se empleó una balanza digital CAMRY de 0,02 g de sensibilidad para la toma del peso y en cuanto a la toma de la longitud se usó un ictiómetro de 30 cm. Se evaluaron tres cosechas de *L. sativa* "lechuga", a densidades de 12, 15 y 18 plantas; previamente fueron sembradas en depósitos de plásticos de 25 x 12 cm, usando tierra y arenilla. Luego de cinco días, pasaron a un depósito de 80 x 50 cm, sembrándose a una distancia de 5 cm.

Finalmente, cuando las lechugas alcanzaron una longitud de 5 a 7 cm de raíz, se colocaron en las camas, cada 7 cm y luego de una semana en que los peces estuvieron en la cubeta para permitir el flujo de nutrientes y que el nivel de amonio se incremente a 50 mg/l. Se realizó muestreos quincenales del peso de las plántulas.

Parámetros productivos de peces y plántulas

Se determinó las tasas de crecimiento absoluto (TCA) y relativo (TCR), para lo cual se usó las siguientes fórmulas¹⁸:

Tasa de crecimiento absoluto:

$$TCA = (\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{tiempo final} - \text{tiempo inicial}$$

Tasa de crecimiento relativo:

$$TCR = (\text{Ln peso final} - \text{Ln peso inicial}) / \text{tiempo final} - \text{tiempo inicial}$$

Donde: Ln = Logaritmo natural

Parámetros de calidad del agua

Se registró diariamente datos de temperatura ambiente y temperatura del agua (8:00 am, 12:00 pm y 4:00 pm) usando un termómetro de 1°C de sensibilidad; asimismo semanalmente se tomó información referente a pH empleándose un pHmetro marca WATERPROOF. También se realizaron muestreos semanalmente de amonio (NH_4) y amoníaco (NH_3) siendo este último obtenido según los valores del NH_4 y del pH; nitritos (NO_2), nitratos (NO_3) y dureza de carbonatos (KH), a través de kits comerciales SERA.

El procedimiento del Test NH_3 - NH_4 fue el siguiente:

- Aclarar la cubeta varias veces con el agua que se vaya a analizar. Llenar hasta la marca de 10 ml (agua dulce) o hasta los 5 ml (agua salada). Secar la cubeta por la parte exterior.
- Añadir 6 gotas del reactivo 1 y mover la cubeta hasta que el líquido se haya disuelto bien.
- Añadir 6 gotas del reactivo 2 y mover la cubeta del mismo modo.
- Añadir 6 gotas del reactivo 3 y volver a mover la cubeta.
- Transcurridos 5 minutos, comparar los colores. Para esto, colocar el recipiente sobre la escala y con la luz del día, pero sin incidencia directa de los rayos solares, observar el líquido desde arriba.
- Consultar la tabla adyacente, determinar el contenido de amoníaco a partir de la concentración media del amonio y del pH.
- Limpiar antes y después de cada análisis, lavar bien la cubeta con agua de grifo.

El procedimiento del test NO_2 fue el siguiente:

- Aclarar la cubeta varias veces con el agua a comprobar y llenar hasta la marca de 5 ml. Secar la cubeta por la parte exterior.
- Añadir 5 gotas del reactivo 1 y 5 gotas del reactivo 2.
- Agitar la cubeta ligeramente hasta que el líquido esté bien repartido.
- Al cabo de 5 minutos comparar los colores. Para ello, colocar la cubeta sobre la escala y observar desde arriba con luz diurna y sin luz solar directa.
- Limpiar antes y después de cada test la cubeta, a fondo con agua de grifo.
- El procedimiento del test NO_3 fue el siguiente:
- Aclarar la cubeta varias veces con el agua a comprobar y llenar hasta la marca de 10 ml. Secar la cubeta por la parte exterior.
- Aplicar 6 gotas del reactivo 1 y agitar la cubeta ligeramente hasta que el líquido este bien repartido.
- Aplicar 6 gotas del reactivo 2 y agitar la cubeta ligeramente hasta que el líquido este bien repartido.
- Usar la cuchara dosificadora (roja), añadir a la cubeta una cucharada rasa del reactivo 3.
- Cerrar la cubeta con la tapa y agitar con fuerza exactamente durante 15 segundos.
- Abrir la cubeta y añadir 6 gotas del reactivo 4. Agitar la cubeta ligeramente hasta que el líquido este bien distribuido.
- Al cabo de 5 minutos comparar los colores. Para ello, colocar la cubeta sobre la escala. Observar desde arriba con luz diurna y sin luz solar directa.
- Limpiar antes y después de cada test, la cubeta y la tapa a fondo con agua de grifo.

EL procedimiento para KH fue el siguiente:

- Enjuagar varias veces la cubeta con el agua que se va a comprobar y llenar hasta la marca de 5 ml. Secar la cubeta por fuera.
- Añadir el reactivo gota a gota. Agitar después de cada gota, hasta que el color cambie de azul, verde y luego a amarillo.
- El número de gotas empleados corresponde a la dureza de carbonatos que haya; lavar la cubeta con agua de grifo.

Asimismo se realizó un balance de masas del sistema acuapónico grow bed con la finalidad de ver si el flujo utilizado sirvió para remover las sustancias tóxicas.

Análisis de datos

Una vez que se recopiló la información (peso y longitud) en fichas, estas fueron introducidas en una hoja electrónica en el programa Microsoft Excel 2010. Con ello se realizaron análisis de varianza con el fin de determinar diferencias significativas en el crecimiento de *Lactuca sativa* “lechuga” en el sistema grow bed.

RESULTADOS

El peso inicial promedio de *C. auratus* fue de 2,53 g y a los 178 días de crianza de 4,95 g (Fig. 1). Asimismo, la longitud promedio inicial fue de 4,42 cm promedio y la final de 6,54 cm (Fig. 2). Se obtuvo mayor crecimiento a partir de septiembre.

Con respecto a las plántulas de lechuga, las del primer experimento (12 plántulas por cama, en un tiempo de dos meses y medio) alcanzaron un peso promedio de 62,09 g en la primera cama y 63,34 g en la segunda cama (Fig. 3).

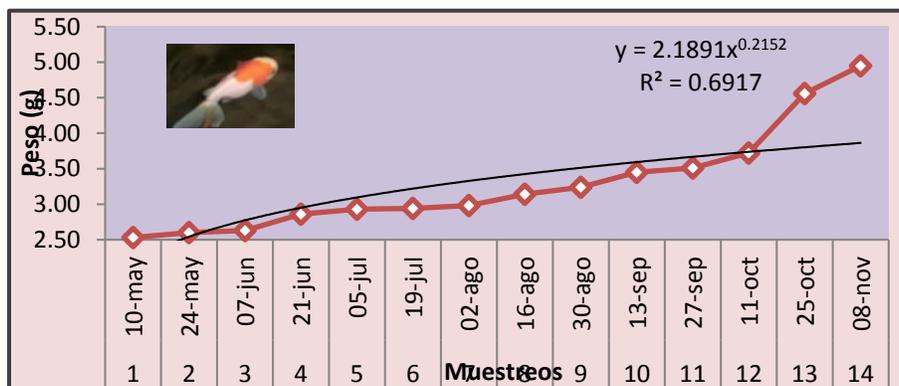


Fig. 1. Peso promedio (g) quincenal de *Carassius auratus* “goldfish” en sistema acuapónico grow bed (◇).

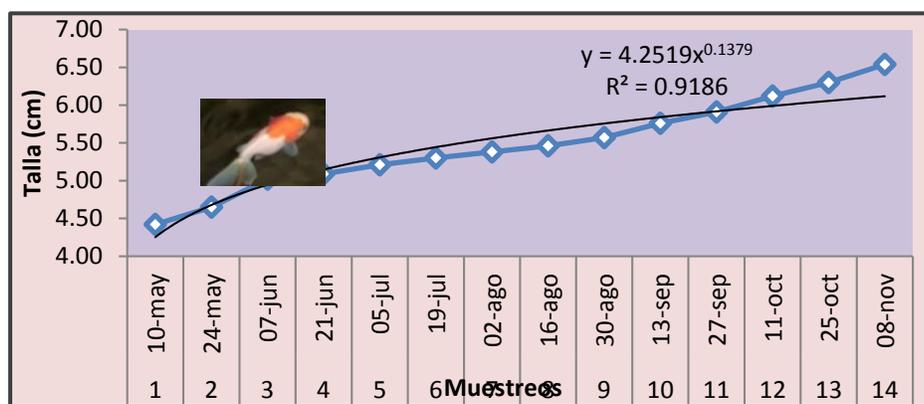


Fig. 2. Longitud promedio (cm) quincenal de *Carassius auratus* “goldfish” en sistema acuapónico grow bed (◇).

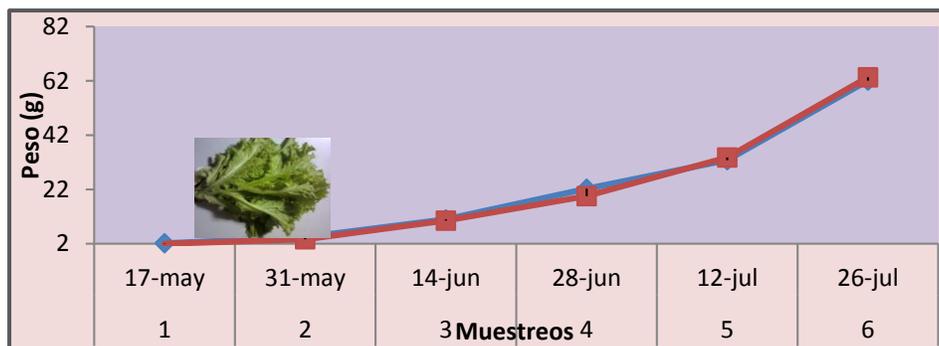


Fig. 3. Peso promedio (g) de *Lactuca sativa* a una densidad de 12 plantas por cama (Cama 1: ◇, Cama 2: □).

El segundo experimento estuvo conformado por 15 plántulas por cama, en promedio de un tiempo de dos meses, en donde las plántulas de la primera cama obtuvieron un peso 94,88 g y la segunda cama de 110,44 g (Fig. 4).

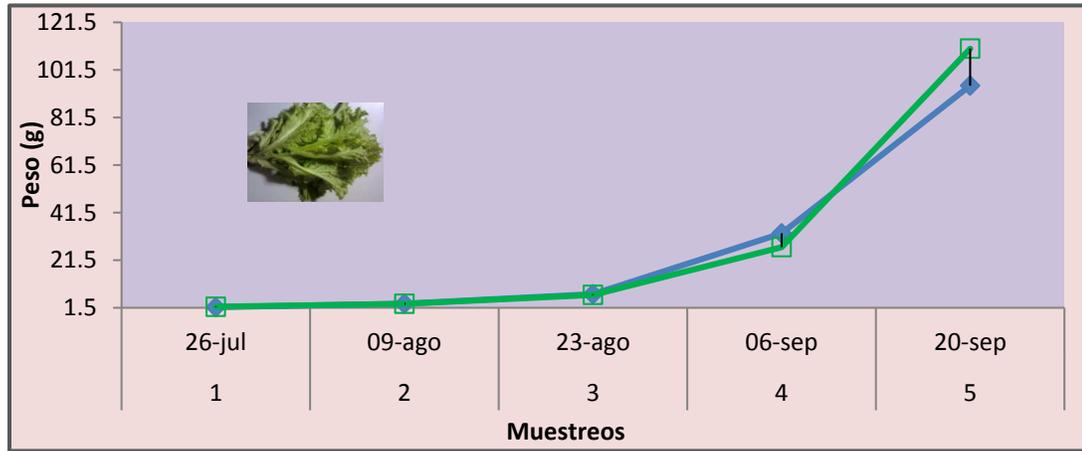


Fig. 4. Peso promedio (g) de *Lactuca sativa* a una densidad de 15 plantas por cama (Cama 1: ◆, Cama 2: ■).

El tercer experimento estuvo comprendido por 18 plántulas por cama, en un tiempo de dos meses, en donde las plántulas de la primera cama obtuvieron un peso promedio de 92,96 g y la segunda cama de 102,46 g promedio. El crecimiento de las plántulas de la tercera cosecha tuvo el mismo tiempo y valores similares que la segunda cosecha (Fig. 5).

Teniendo en cuenta los parámetros productivos, para los peces, la tasa de crecimiento absoluto (TCA) fue de 0,014 g/día, mientras que la tasa de crecimiento relativo fue de 0,004 %/día. Asimismo se muestra que las tasas de crecimiento absoluto y relativo durante los tres experimentos para las lechugas, fue mayor en la cama 2 (Tabla 1).

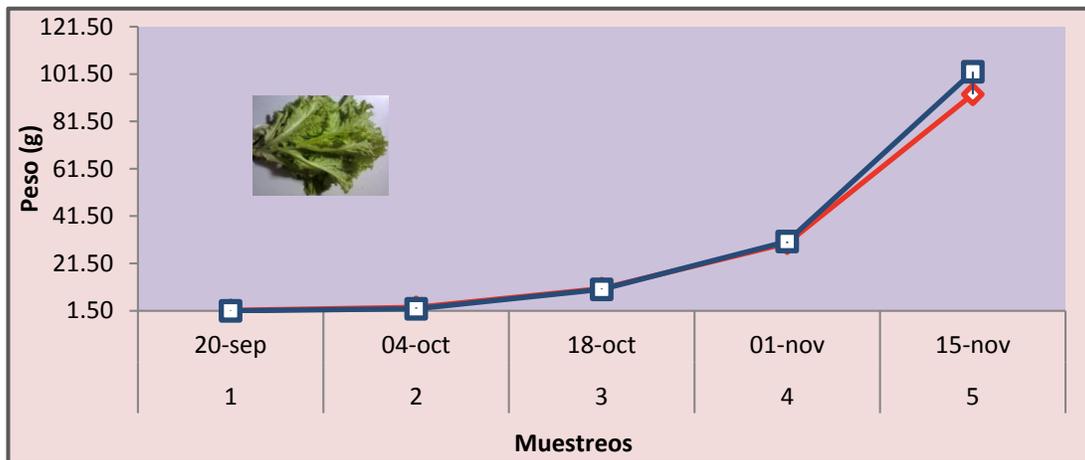


Fig. 5. Peso promedio (g) de *Lactuca sativa* a una densidad de 18 plantas por cama (Cama 1: ◆, Cama 2: ■).

Tabla 1. Parámetros productivos para *Lactuca sativa* “lechuga” en sistema acuapónico. (El análisis de varianza de una vía (ANOVA) no mostró diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las réplicas o camas de cultivo)

Plantas	Cama 1		Cama 2	
	TCA (g/día)	TCR (%/día)	TCA (g/día)	TCR (%/día)
Experimento 1	0,81	0,045	0,83	0,047
Experimento 2	1,58	0,068	1,84	0,069
Experimento 3	1,55	0,068	1,71	0,071

En el sistema acuapónico grow bed, las lechugas ubicadas en las camas de cultivo fueron ingresadas cuando estas tenían de 5-7 cm de raíz y se trabajaron a densidades de 12, 15 y 18 lechugas/m²; cuando estas tenían un mes de cultivo podemos notar que el crecimiento no era aún notable, indicando que aún se encontraban adaptándose al sistema. A los dos meses de cultivo, se aprecia que las lechugas ya presentaban en su mayoría, 8 hojas frondosas; las cosechas se realizaron en un tiempo de 2 a 2 meses y medio, y teniendo en cuenta factores, como que el tallo en las lechugas presentara un diámetro de 2 cm, y al área foliar tuviera de 10 a más hojas frondosas (Fig. 6).

Con relación a los parámetros fisicoquímicos durante la investigación, los valores de temperatura ambiente oscilaron entre 18 a 24 °C y temperatura del agua presentó valores de 16 a 23 °C, siendo los meses de junio a agosto, los meses más fríos e influyentes en el crecimiento (Fig. 7).

Los valores de pH presentaron oscilaciones, pero por lo general fue de 7,8 a diferencia de las dos primeras semanas, en que tuvieron valores de 7,4 y 7,6 y a la presencia de picos de 8 en los meses de mayo, julio y octubre. (Fig. 8).

En cuanto a los parámetros de calidad de agua, no se presenciaron valores de nitritos (NO₂) a excepción de la primera semana (0,5 mg/l).

Asimismo los valores de nitrato (NO₃) fueron de 53 mg/l, excepto en el primer muestreo (25 mg/l) y habiéndose producido picos de 80 mg/l en los meses de mayo, julio, septiembre y noviembre (Fig. 8)

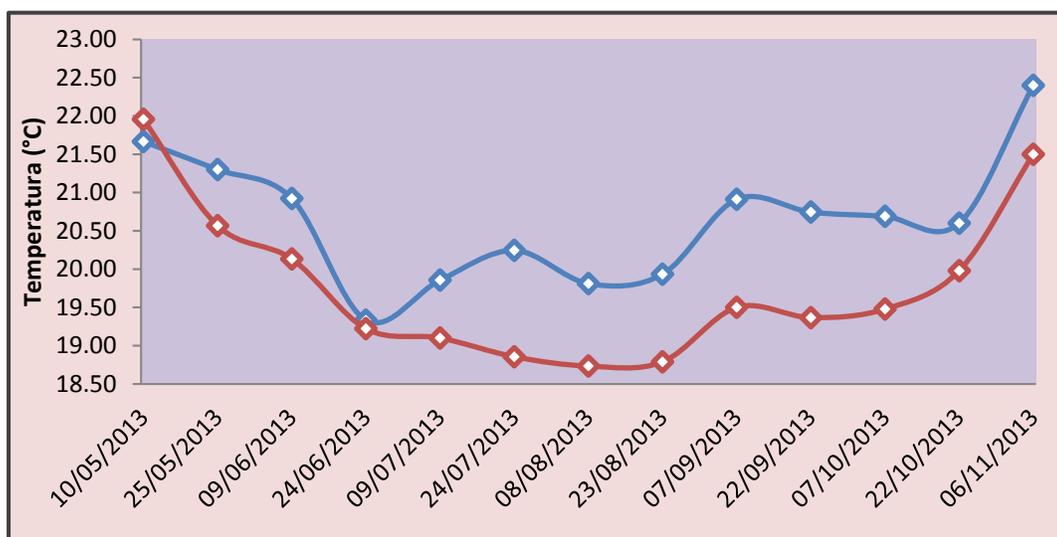


Fig. 6. Variación quincenal de la temperatura ambiental (°C) (◊) y la temperatura del agua (°C) (◊) en el crecimiento de *C. arvensis* y *Lactuca sativa*.

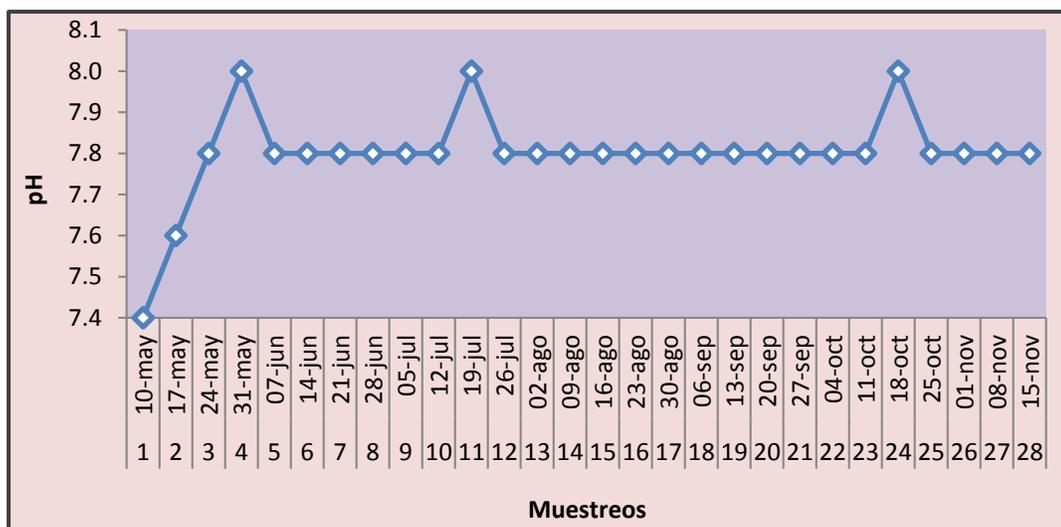


Fig. 7. Variación semanal del pH en la crianza de goldfish, *Carassius auratus*, y lechuga, *Lactuca sativa* (◇).

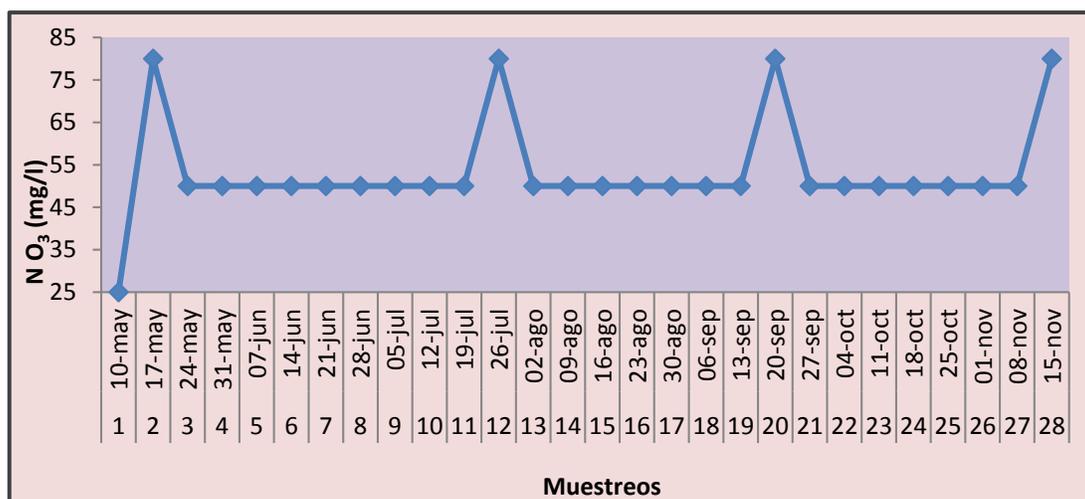


Fig. 8. Cinética semanal del nitrato (NO₃) en sistema acuapónico (◇).

No se presentaron valores de amonio (NH₄) y amoniaco (NH₃), excepto en la primera semana de muestreo (0,5 y 0,009 mg/l respectivamente). Los valores de dureza de carbonatos (KH) fueron de 4 dkh promedio (70 mg/l), teniendo el mayor descenso en el mes de octubre (Fig. 9).

El balance de masas indica que el flujo empleado logró remover las sustancias tóxicas presentes al inicio del cultivo como el amoniaco y nitritos, posteriormente estas desaparecieron con el paso de los días. En el caso de la dureza de carbonatos, está fue menor al final del cultivo; el amonio y nitratos, ambos beneficiosos para las plantas, en el caso del primero, desapareció, mientras que el nitrato presentó valores óptimos (Fig. 10).

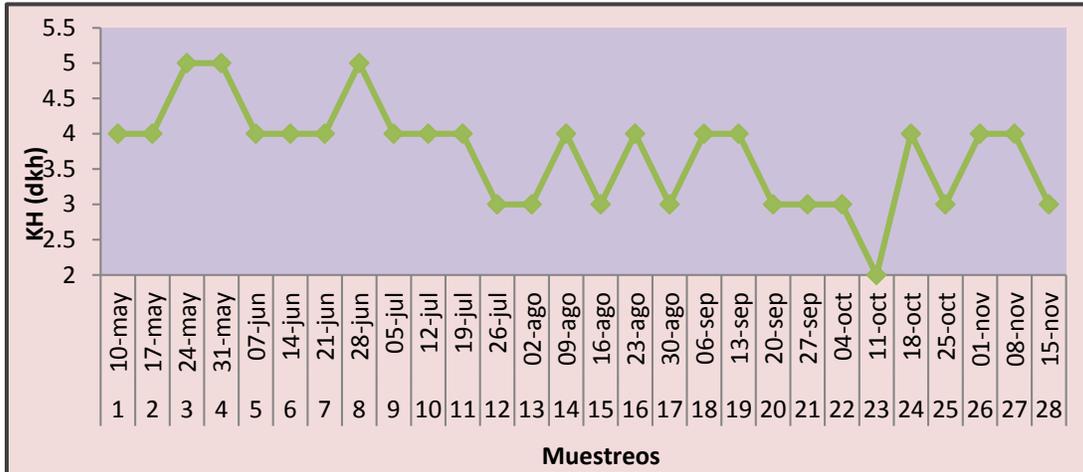


Fig. 9. Cinética semanal de la dureza de carbonato (KH) en sistema acuapónico (◇).

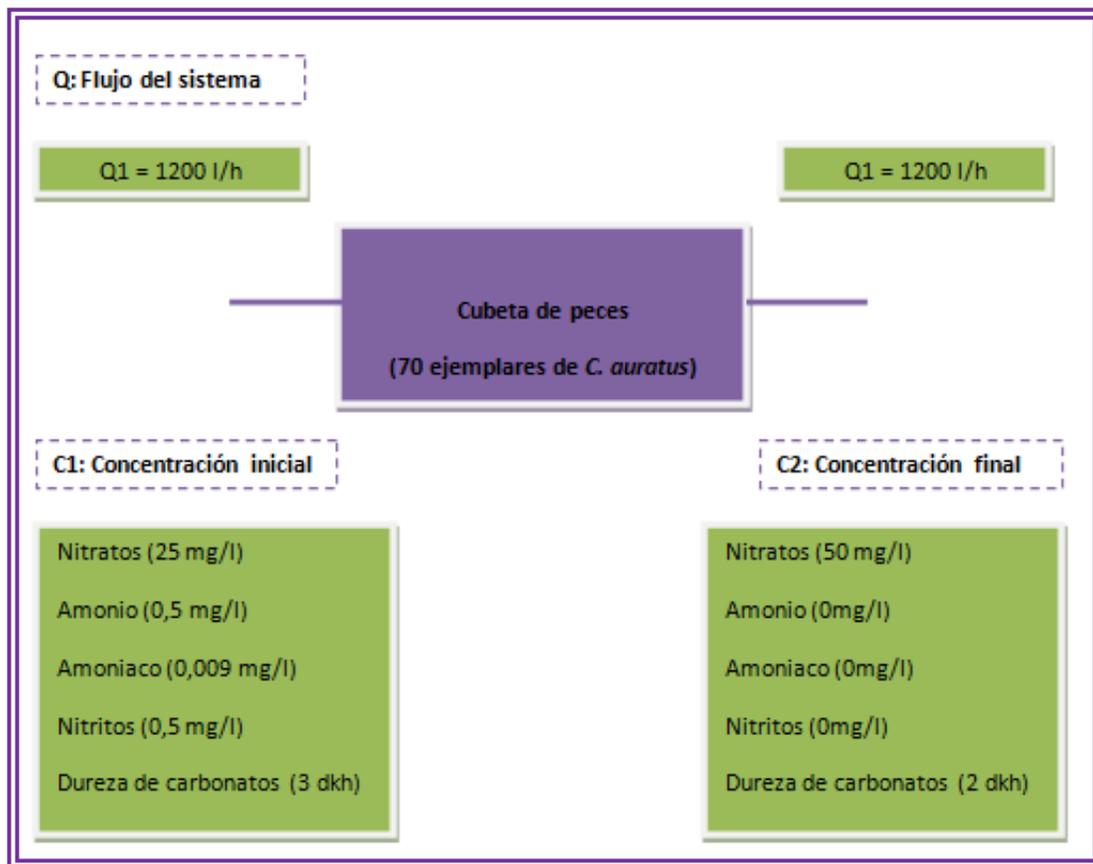


Fig. 10. Balance de masas del sistema acuapónico grow bed.

DISCUSIÓN

El crecimiento de *C. auratus* “goldfish” fue relativamente lento, con valores de 4,95 g y 6,54 cm promedio, comparado con el crecimiento que presenta en un cultivo tradicional, siendo de 5 - 8 g y 7 - 9 cm, en el mismo tiempo al que se desarrolló el cultivo. Sin embargo, en un sistema grow bed, el crecimiento presentado, registra valores relativamente similares, como los de Ramírez et al.¹⁹ empleando dos replicas con 80 ejemplares cada uno (4 y 7 g, 6,9 y 8,8 cm). Asimismo, se obtuvieron valores de 5,81, 6,35 y 8,88 g y 5,34, 6,16 y 5,81 cm de longitud estándar usando tres experimentos con dos réplicas y 330 ejemplares²⁰.

Este menor crecimiento se evidenció con los parámetros productivos de las tasas de crecimiento absoluto y relativo (TCA y TCR) que tuvieron valores de 0,014 g/ día y 0,004 %/día, lo cual coincide con Ramírez et al. (2009) con una TCA de 0,014 y 0,024 g/día y un TCR de 0,004 y 0,005 %/día, mientras que Martínez et al.¹¹, tuvieron valores aún menores, con una TCA de 0,008 y 0,012 g/día y una TCR de 0,003 %/día. Esto pudo estar relacionado al efecto sinérgico de varios factores como los parámetros fisicoquímicos, calidad del agua y la edad de los peces.

Los niveles de pH se mantuvieron dentro de los parámetros tolerables (6,0 - 7,8 para *C. auratus*)¹², el cual dentro del estudio fue de 7,8 promedio, estos resultados difieren de los obtenidos por Skomall²¹ indicando un pH entre 6,5 a 8,5. Asimismo, se ha indicado que los niveles de tolerancia de pH para los peces son de 4,5 a 10,5, siendo una preferencia por los niveles de pH entre 5,5 y 7,0m y que señala que para los peces, el pH adecuado es de 6,5 - 7,0^{22,23}.

Valores óptimos de pH son importantes para mantener un adecuado metabolismo de los peces, los valores bajos de pH causan estrés, variación en niveles de dureza del agua y el apetito disminuye. Cuando este es básico, se produce una rápida transformación del amonio presente en el agua en amoniaco provocando asfixia en los peces. Se sabe que el pH incide significativamente en el comportamiento de las colonias bacterianas responsables de los procesos de nitrificación²⁴.

Durante la nitrificación, no se detectó amoniaco (NH_3) y amonio (NH_4), pero se puede decir que su producción se comportó de acuerdo a lo descrito previamente^{22,24}, comenzando con una alta concentración y disminuyendo con el tiempo, a medida que ocurría el proceso de transformación bacteriana. Los niveles altos de pH pueden haber influido en la ausencia de picos de amonio, ya que en esas condiciones las bacterias cumplen adecuadamente su función nitrificante; en el agua, el amonio se encuentra en dos formas: una no-ionizada denominada amoniaco (NH_3) que es altamente tóxica para los peces y una ionizada llamada amonio (NH_4) que es menos tóxica llamándose ambas amonio total (TAN) estando sujeto su equilibrio al pH y la temperatura, presentando más toxicidad la forma no ionizada (NH_3): no se encuentran bien definidos los efectos sub-letales del amoniaco; concentraciones bajas desde 0,02 a 0,07 mg/l han demostrado reducir el crecimiento y provocar daños en los tejidos branquiales en especies de aguas cálidas^{25,26}.

Oncorhynchus mykiss “trucha arcoiris”, sólo puede tolerar pequeñas concentraciones de este gas (de 0,03 a 0,05 mg/l de NH_3); ésta concentración por varios días, puede ocasionar daños severos y aun la muerte de los organismos; asimismo, *Oreochromis niloticus* “tilapia del Nilo”, puede tolerar niveles que van desde 1,1 a 4,1 mg/l de NH_3 durante largos periodos de tiempo (hasta 96 horas), mostrando una mortalidad del 50%; en esta especie también se ha encontrado que la sensibilidad varía de acuerdo al tamaño de los peces y a la temperatura del agua²⁷.

No se detectó valores de nitritos durante la investigación, indicando que en el sistema empleado se producía la conversión nitritos - nitratos. Sin embargo, Smartt y Bundell¹² reportan para *C. auratus* niveles adecuados de 0 a 0,8 mg/l. Estos niveles permiten un mejor comportamiento en la cinética del crecimiento en términos de peso y longitud de *C. auratus*. Sin embargo, se ha señalado que concentraciones de 0,5 mg/l son estresantes para el channel catfish (*Ictalurus punctatus*), mientras que concentraciones de 5 mg/l parecen causar un ligero estrés en el caso de la tilapia²⁶.

Las concentraciones altas de nitritos se pueden observar cuando el sistema se está estabilizando (primeras semanas), después de esto las condiciones biológicas del sistema permiten regular los niveles de

nitritos, pero, el exceso de nitritos es un problema importante en los sistemas de recirculación debido a que estos se fijan en las moléculas de hemoglobina de los peces inhibiendo el transporte de oxígeno en la sangre. Se considera que una concentración superior a 0,3 mg/l puede ser perjudicial para los peces²⁸.

Buttner²⁹ manifiesta que el nitrato en un sistema parte de una cantidad nula y con el paso del tiempo se va acumulando hasta obtener una concentración constante. Esto permite afirmar que las bacterias trabajaron correctamente en ese proceso bioquímico. Adicionalmente sugiere que las plantas están utilizando dicho nitrato, pues el nivel no se incrementó más de 80 mg/l.

La dureza de carbonatos presentó valores de 4 dH (70 mg/l) promedio, siendo similares a los registrados previamente³⁰, concentraciones entre 0 y 7 dH para *Piaractus mesopotamicus*, mientras para los goldfish debe tener un KH de 5 a 10 dH, permitiendo que se mantenga estable el pH. Se ha indicado que la regulación de los valores de KH depende en gran medida de las variaciones del pH y el CO₂ presentes en el agua y se puede controlar con recambios de agua si los valores son muy altos (200 a 400 ppm) o con adición de sales si los niveles son muy bajos³¹.

Con relación a la temperatura ambiente presentó valores de 20,60 °C promedio, mientras que la temperatura del agua fue de 19,74°C promedio, siendo ésta última diferente a los mencionado Ikenoue y Kafuku³² ya que indican que los goldfish soportan temperaturas de 0 a 35°C, siendo su óptimo de crecimiento a 20 - 28 °C; este hecho puede explicar en parte el bajo crecimiento en peso y longitud registrado por los peces, al disminuir el metabolismo. el efecto de la temperatura en el crecimiento de peces ha sido ampliamente documentado; Fonds et al.³³ para *Paralichthys olivaceus*, demuestra que la temperatura del agua afecta la temperatura corporal, la ingesta de alimento, la tasa de crecimiento y el factor de conversión alimenticia entre otros procesos fisiológicos del organismo.

Debido a los escasos estudios científicos para el cultivo acuapónico de goldfish y lechuga, fue difícil tener conocimientos sobre los parámetros productivos; sin embargo, en la investigación la TCA y TCR para las lechugas fue mayor en la segunda cosecha (1,58 y 1,84 g/día; 0,068 y 0,069 %/día para ambas camas) asimismo se obtuvo el mayor crecimiento en peso registrándose valores de 94,88 g para la primer cama y la segunda cama de 110,44 g. Estos valores son diferentes a los expuestos por Cifuentes y Torres²⁰ empleando orégano (0,53 g/día máximo y 0,032 %/día respectivamente) al igual que Riaño¹⁷. Aunque al realizar el análisis de varianza (ANAVA), reflejó que no existieron diferencias significativas entre las camas de cultivo durante los tres experimentos, únicamente hubo diferencia pero entre los pesos presentados por las lechugas.

Si bien es cierto, las lechugas acuapónicas tuvieron un crecimiento menor a las lechugas hidropónicas, sin embargo, estas crecieron mejor que lechugas cultivadas en suelo: pesos de 92,08 g y 199.8 g en 72 días en variedad Batavia; además en el cultivo con sustrato se puede realizar siete ciclos de cultivo comparado con el cultivo en suelo donde se puede hacer solo cinco ciclos, siendo algunos seguidos³⁴. Cabe recalcar que las condiciones ambientales y la maduración del sistema, influyó en obtener un mejor crecimiento para las lechugas.

Asimismo este crecimiento probablemente estuvo afectado por la disponibilidad de nutrientes y su interacción con el pH. En los sistemas acuapónicos se recomienda mantener el pH entre 6,5 - 7,0, puesto que los requerimientos de los tres organismos son diferentes (peces, plantas y bacterias) y deben ser balanceados. Para los peces el pH adecuado es de 6,0 - 7,5, mientras que para las plantas es de 6,5 - 7,0 y para las bacterias es de 7,0 - 9,0. Cabe aclarar que estos valores pueden variar de acuerdo a las especies trabajadas afectando el comportamiento del sistema⁷.

El pH es un parámetro de calidad de agua determinante para la absorción de varios nutrientes por parte de la planta, el óptimo rango de pH donde se obtiene la mayor absorción de los macronutrientes N, P y K ocurre entre 5 a 6 y para sistemas hidropónicos entre 5,5 a 6,5². Por lo anterior se puede inferir que los sistemas acuapónicos no estuvieron entre los rangos recomendados para permitir la mayor absorción de nutrientes.

Con respecto al diseño del sistema, este se hizo de acuerdo al estudio de Ramírez et al.¹⁹ empleando una densidad de 80 peces en 480 L, mediante un sistema de balsas flotantes; por lo que en el presente estudio se empleó una densidad de 70 peces en 420 L, con la diferencia que se utilizó camas de cultivo con sustrato (grava) como biofiltro. Cifuentes y Torres²⁰ en su investigación emplearon 330 peces goldfish en 1000 L, lo que indica una menor cantidad de litros de agua por cada pez y usando camas flotantes.

En cuanto a la proporción de las lechugas en el sistema acuapónico, fue de 12 lechugas en el primer experimento, 15 y 18 por m² respectivamente, empleando sustrato (grava), lo cual difiere del trabajo previo¹⁹ que trabajaron en sistema de balsas flotantes, usando 2 láminas de icopor de 70 x 58 x 2 cm a la cual se le realizaron 16 agujeros, a una distancia de 15 cm entre cada uno.

Según lo reportado por Rakocy⁷ los nutrientes necesarios para la producción de *Oreochromis niloticus* – *L. sativa*/m² son suministrados con 60 g de alimento ofrecido para vegetales sin fruto en sistemas de cama flotante, la Universidad de Hawai'i (2004) proporciona de 15 a 40 g de alimento diario para la relación entre estos dos organismos, mientras que en Endut et al.³⁵ reportan de 15 - 42 g de concentrado para sistemas de *C. gariepinus* - *L. sativa*. Esto depende de las densidades empleadas en el estudio así como del tipo de alimento suministrado, pero principalmente de la especie a investigar.

CONCLUSIONES

- El crecimiento de *C. auratus* en sistema acuapónico grow bed fue de 4,95 g y 6,54 cm. Asimismo el crecimiento de *L. sativa* a una densidad de 12 lechugas/m² fue de 62,09 g y 63,34 g, a una densidad de 15 lechugas/m², 94, 88 g y 110,44 g y de 92,96 g y 102,46 g a una densidad de 18 lechugas/m².
- En cuanto a los parámetros productivos para los peces, fueron de 0,014 g/día y 0,004 % /día y con respecto a las lechugas, las TCA y TCR ligeramente mayor para la cama 2 de cultivo en los tres experimentos (0,83, 1,84 y 1,71 g/día y 0,047, 0,069 y 0,071 %/día respectivamente) a diferencia de la cama 1 de cultivo (0,81, 1,58 y 1,55 g/día y 0,045, 0,068 %/día).
- La temperatura ambiente y del agua fue menor a las requeridas por los goldfish a diferencia de las lechugas. Del mismo modo, no se detectó presencia de amonio, amoniaco y nitritos, sin embargo, los valores de dureza de carbonato fueron menores a los requeridos. Los valores de nitrato se encontraron dentro de los óptimos para el cultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rakocy J. Aquaponics: integrating fish and plant culture. Virgin Island - USA. 2007; 1-850.
2. Rakocy J, Charlie R, Bailey D, Thoman E. Aquaponic production of tilapia and basil: Comparing a bath and staggered cropping system. University of the Virgin Island, USA. 2004; 1 - 8.
3. Diver S. Aquaponics: integration of hydroponics with aquaculture. Australia. 2006; 1-28.
4. Ramírez D, Jiménez P, Hurtado H. La Acuaponía: Una alternativa orientada al desarrollo sostenible. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá. Colombia 2008; 4(1): 32-51.
5. Diver S. Aquaponics - Integration of hydroponics with aquaculture. Appropriate Technology Transfer for Rural Areas (ATTRA). 2000; 1-11.
6. McMurtry M, Sanders D, Cure J, Hodson R, et al. Efficiency of water use of an integrated fish/vegetable co-culture system. J World Aquacul Soc 1997; 28: 420-428.
7. Rakocy J. Aquaponics: Integrating Fish and Plant Culture. California. 2010; 1-78.
8. Ostrow M. Goldfish: everything about aquariums, varieties, care, nutrition, diseases, and more. México, DF: Edit Barron's. 2003.
9. Vázquez T, Maldonado C, Marañón S, Espina S. Estrés producido por concentraciones terapéuticas de sulfato de cobre en *Carassius auratus* (Pisces, Cyprinidae). Universidad Autónoma Metropolitana. D.F. - México. 2005; 1-55.
10. Chuquipiondo C. Alternativas de producción de peces ornamentales en la Amazonía Peruana. Iquitos - Perú. 2009; 1-5
11. Martínez O, Gómez E, Hurtado H. Levante de Goldfish (*Carassius auratus*) en sistema de recirculación cerrada. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá - Colombia. 2011; 1-350.
12. Adler P, Harper J, Wade E, Takeda F, et al. Economic Analysis of an Aquaponic System for the Integrated Production of Rainbow Trout and Plants. Int J Recirculat Aquac 2000; 1: 10-13.
13. Rakocy J, Losordo T, Masser M. Recirculating aquaculture tank production systems: integrating fish and plant culture. 1992; 454: 1 - 8.
14. Alvarado D, Chávez F, Wilhemina K. Lechugas hidropónicas: Seminario de Agro Negocios. Universidad del Pacífico. Facultad de Administración y Contabilidad Lima- Perú. 2001; 1-8.

15. Ramírez D, Sabogal D, Hurtado H. Estudio del Crecimiento de Goldfish (*C. auratus*) y en la Lechuga (*L. sativa*) en un Sistema Acuapónico Bajo Condiciones de Invernadero. Rev Med Vet Zoot 2007; (54): 166-167.
16. Ramírez L. Evaluación preliminar de un sistema acuapónico para el cultivo de orégano (*Origanum vulgare*; familia: Lamiaceae) y carpa común (*Cyprinus carpio*; familia: Cyprinidae) bajo invernadero en Cajicá - Cundinamarca. Tesis de Pregrado. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá - Colombia. 2011; 1-18.
17. Riaño E. Evaluación de un sistema acuapónico utilizando un sustrato en malla para la producción de orégano (*Origanum vulgare*) - carpa (*Cyprinus carpio*). Proyecto de Iniciación Científica. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá - Colombia. 2010; 1-15.
18. Nelson R. Aquaponic food production: Growing fish and vegetables for food and profit. Virgin Island - USA. 2008; 1-28.
19. Ramírez D, Sabogal D, Gómez E, Rodríguez D, Hurtado H. Montaje y evaluación preliminar de un sistema acuapónico Goldfish - Lechuga. Universidad Militar de Nueva Granada. Rev Fac Cien Biol 2009; 5(1): 154-170.
20. Cifuentes M, Torres A. Evaluación del crecimiento de goldfish (*Carassius auratus*), carpa (*Cyprinus carpio*) y orégano (*Origanum vulgare*) en un Sistema Acuapónico. Cajica - Colombia. 2012; 1-81.
21. Skomal G. Goldfish: Your happy healthy pet. 2da ed. USA: Edit Barron's. 1996; 1-80.
22. Lorenzoni M, Corboli M, Ghetti L, Pedicillo G, Carosi A. Growth and reproduction of the goldfish *Carassius auratus*: a case study from Italy. 2007; 1-315.
23. Olufeagba S, Ladu B, Ayanda J, Ashonibare B. Investment feasibility in gold fish *Carassius auratus*. Proc Fish Soc Nigeria 2004; 1-288.
24. Timmons M, Ebeling J, Wheaton F, Summerfelt S, Vinvi B. Recirculation aquaculture system. 2nd ed. UK: Elsevier 2002; 1-35.
25. Losordo M. Recirculating Aquaculture Tank Production Systems. California, USA: SRAC Publication 1998; 1-48.
26. Masser P, Rakocy J, Losordo T. Recirculating Aquaculture Tank Production Systems. Management of Recirculating Systems. Southern Regional Aquaculture Center 1999; (452): 5 - 7.
27. Abdalla A, McNabb C, Batterson T. Ammonia dynamic in fertilized fish ponds stocked with Nile Tilapia: The progressive fish 1996; 58: 117-123.
28. Turnbull R, Timmons M. Use of biological filters in recirculating aquaculture systems. Bull 463. Department of Agriculture and Biological Engineering. Cornell University. New York – USA 1993; 1-8.
29. Buttner J. System Set-up and conditioning. En Recirculating Aquaculture Set-up Chronological Assistance Letters. Boston 2000; 1-100.
30. Domínguez O, Martínez D. Desempeño de los sistemas acuícolas de recirculación en el cultivo intensivo del Pacú *Piaractus mesopotamicus* (Characiformes: Characidae). Rev Biol Trop 2011; 60(1): 381-391.
31. Krause J, Kuzan D, DeFrank M, Mendez R, et al. Design Guide for Recirculating Aquaculture System. Rowan University 2006; 1-78.
32. Ikenoue H, Kafuku T. Modern method of aquaculture in Japan. Tokio 1992; 1-120.
33. Fonds M, Tanaka M, Van Der H. Feeding and growth of juvenile japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in relation to temperature and food supply. Netherl J Sea Res 1995; 34: 111-118.
34. Sádaba S, Del Castillo J, Amaya M, Aguado G. Cultivo hidropónico de lechuga. Sistemas de cultivo de lechuga "Batavia" de invernadero en Navarra. España 2010; 1-10.
35. Endut A, Jusoh A, Wan N, Hassan A. A Study on the optimal hydraulic loading rate and plant ratios in recirculation aquaponic system. J Bioresour 2010; 101: 1511-1517.

Guía para los autores

Siguiendo normas gramaticales, de puntuación, de escrituras de nombres científicos, de abreviaciones y de escritura de símbolos químicos de aceptación universal, la redacción deberá hacerse de modo impersonal en una extensión máxima de 20 páginas. El tipeado deberá hacerse a espacio y medio, en papel Bond de 80g, A4, con márgenes de 2,5cm a cada lado y presentados, por duplicado, acompañados de la versión grabada en CD

ESTRUCTURA

Deberán estructurarse como sigue:

- a. **Título:** sin abreviaturas, símbolos químicos, ni autores de taxa científicos.
- b. **Auto(es):** , primer nombre, seguido por la inicial del segundo nombre (opcional), apellido paterno y materno (opcional)
- c. **Dirección(es);** de la Institución y e-mail del primer autor
- d. **Resumen:** en un solo párrafo y aproximadamente 200 palabras. Debe contener el problema u objetivo, la metodología empleada, los resultados más importantes y la(s) conclusión(es). Al final debe tener sus Palabras Clave (cinco como máximo)
- e. **Abstract:** es una traducción, al inglés, del resumen. Al final debe aparecer: Keywords
- f. **Introducción**
- g. **Material y métodos**
- h. **Resultados**
- i. **Discusión**
- j. **Agradecimientos** (opcional y sólo para los que han aportado significativamente con la investigación)
- k. **Referencias bibliográficas**
- l. **Tablas y/ o figuras** (opcional y con su leyenda).

Las citas de los autores deberán hacerse utilizando números, a modo de superíndice, separados por comas y las referencias deberán enumerarse de acuerdo al orden de aparición en el texto y deberán ser estructuradas siguiendo la última versión de Las Normas Vancouver.

Formalmente, las Tablas deberán tener solamente líneas horizontales, un título claro, completo y entendible sin necesidad de recurrir al texto y con esta denominación numerada con números arábigos, por ejemplo: Tabla 1. Las llamadas o notas de pie de Tabla se harán mediante letras como exponentes en orden alfabético o con asteriscos, en caso que sean una o dos.

Las figuras, que incluyen gráficas, fotografías y/o esquemas, deberán abreviarse como **Fig.** y numerada, por ejemplo **Fig. 1.**, seguida de un título claro y entendible por sí mismo.